

SKRIPSI

**POTENSI ASAM LINOLEAT DALAM SUSU TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI TULANG RAWAN
SENDI METATARSAL TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) *SUSPECT*
ARTRITIS**



Oleh :

PATRICIA
060513511

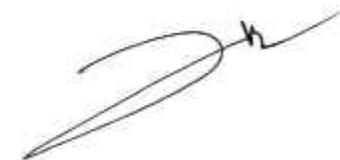
**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2009**

**POTENSI ASAM LINOLEAT DALAM SUSU TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI TULANG RAWAN
SENDI METATARSAL TIKUS PUTIH
(*Rattus novergicus*) SUSPECT
ARTRITIS**

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh
PATRICIA
060513511

Menyetujui
Komisi Pembimbing,



(Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D.Drh.)
NIP. 130 687 305



(Indah Norma Triana, M.Si., Drh)
NIP. 131 576 469

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi berjudul :

**POTENSI ASAM LINOLEAT DALAM SUSU TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI TULANG RAWAN SENDI METATARSAL
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
SUSPECT ARTRITIS**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 15 Juni 2009


PATRICIA
060513511

Telah dinilai pada Seminar Hasil Penelitian

Tanggal : 5 Juni 2009

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua : Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh.

Sekretaris : Setyawati Sigit, M.S., drh.

Anggota : Budiarto. M.P., drh.

Pembimbing I : Prof. Romziah Sidik. Ph.D., drh.

Pembimbing II : Indah Norma Triana, M.Si., drh.

Telah diuji pada

Tanggal : 12 Juni 2009

KOMISI PENGUJI SKRIPSI

Ketua : Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes., drh.

Sekretaris : Setyawati Sigit, M.S., drh.

Anggota : Budiarto. M.P., drh.

Pembimbing I : Prof. Romziah Sidik. Ph.D., drh.

Pembimbing II : Indah Norma Triana, M.Si., drh.

Surabaya, 12 Juni 2009

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., drh.

NIP. 130 687 305

**LINOLEIC ACID POTENTIAL IN MILK THAT CONTAIN
TOWARD HISTOPATOLOGY CARTILAGES OF
METATARSAL ARTICULAR IN RAT
SUSPECT ARTHRITIS**

PATRICIA

ABSTRACT

The aim of this research was to find out the effect of giving milk which contains different potential linoleic acid to the recovery of artificial arthritis in rat (*Rattus norvegicus*) with histopathology observation according to scoring of the destruction in cartilages particular zones. This research has been use 24 rat from Wistar strain that had 3 months old average and had been made arthritis by injecting its, with Freund's Adjuvant. Hereafter its had given with 6 treatment. Kinds of treatment that has been given to arthritis rats mentioned above that is P0 by way of control group without milk giving, P1 group (treated with milk giving contents with linoleic acid 0,621%), P2 group (treated with milk giving contents with linoleic acid 1,480%), P3 group (treated with milk giving contents with linoleic acid 1,517%), P4 group (treated with milk giving contents with linoleic acid 2,104, and P5 group (treated with milk giving contents with linoleic acid 4,726%). Treatments of milk giving were conducted twice a day (*ad libitum*) that were in the morning and evening. Afterwards rats said above be observed its histopathology description and seen microscopically. The data analyzed by using Kolmogorov-smirnov test to see the homogeneity of data so that be able continued with one-way ANOVA, and to see the difference from every treatment continuing again by Duncan 5% test. Result indicated that the effect of giving milk that contains potential linoleic acid toward histopathology cartilages of metatarsal particular in rat has meaningful (significant) difference of the treatment.

Keywords: Milk, Linoleic acid, Histopatology Articular, Arthritis, Complete Freund's Adjuvant (CFA).

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yesus Kristus karena kasihNya lah penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul 'Potensi Asam Linoleat Dalam Susu Terhadap Gambaran Histopatologi Sendi Metatarsal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Suspect Arthritis'

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof.Hj. Romziah Sidik PhD, drh atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti penelitian beliau dan sebagai dosen pembimbing pertama atas saran dan bimbingannya serta dukungannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Ibu Indah Norma Triana, M.Si., Drh., sebagai dosen pembimbing kedua atas saran dan bimbingannya sampai dengan selesainya skripsi ini.

Ibu Dr. Hani Plumeriastuti, M.Kes, drh. selaku sebagai penguji, Ibu Setyawati Sigit. Msi, drh., sebagai sekertaris penguji, dan Bapak Budiarto, M.P., drh., sebagai anggota penguji.

Bapak Djoko Legowo, M.Kes., drh, Ibu Arimbi, M.Kes., drh dan Ibu Retno Sri Wahyuni, M.kes., drh atas saran dan bimbingannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Dan seluruh staf karyawan laboratorium patologi dan staf kandang atas bantuannya dalam proses penelitian ini.

Seluruh staf pengajar Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Buat Papa terima kasih buat pengorbanan dan dukungannya selama ini, penulis amat bersyukur memiliki papa sepertimu, Buat Mama, Cici, Ka Reno, Dede, Yona, dan Mili terima kasih buat dukungan, kasih sayang dan doanya yang tercurah selama ini. Buat Koko Kyong-kyong terima kasih buat kepercayaannya selama ini. Buat keluarga di GBI Krispen Mojoarum : Laura, Memy, Deni, Lisa, Sisca, Etha, Lia, Lusi terima kasih banyak buat kebersamaan dan dukungannya.

Buat Adist, Yuwaniska, Maz Andika, dan Bahtiar buat perjuangan dan kerjasamanya dalam penelitian ini. Tanpa kalian penelitian ini tidak akan lengkap, terima kasih buat suka dukanya yang dialami bersama.

Teman- teman angkatan 2005 dan sahabat yang selalu memberikan semangat Ninik, Dama, Lily, Weny, Eka, Erfan, Ida, Beatrix dan seluruh warga kost Bapak Muslimin, serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan skripsi ini. Akhir kata semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan terima kasih.

Surabaya, Juni 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN.....	i
HALAMAN PERNYATAAN.....	ii
HALAMAN IDENTITAS.....	iii
ABSTRAK.....	iv
UCAPAN TERIMAKASIH.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
ARTI SINGKATAN DAN LAMBANG.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Landasan Teori.....	4
1.4. Tujuan Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	6
1.6. Hipotesis.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Susu Sapi.....	7
2.1.1. Sifat Fisik Dan Kimia Susu.....	7
2.1.2. Komposisi Susu.....	7
2.2. Asam Linoleat.....	8
2.2.1 Sumber Asam Linoleat.....	8
2.2.2 Struktur Asam Linoleat.....	9
2.2.3 Asam Linoleat sebagai Prekursor Eukosanoid.....	9
2.2.4 Fungsi Asam Linoleat bagi Kesehatan.....	11
2.3 Karakteristik Sendi Dalam Aktivitas Mahluk Hidup.....	16
2.3.1 Anatomi-Fisiologi Sendi.....	16
2.3.2 Tulang Rawan Sendi Sebagai Penunjang sendi.....	17
2.4. Spesifikasi Arthritis.....	18
2.4.1 Etiologi.....	19
2.4.2 Gambaran Klinikopatologis.....	19
2.5 Adjuvant.....	20
BAB 3 MATERI DAN METODE	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
3.2 Materi Penelitian.....	23
3.2.1 Hewan Percobaan.....	23
3.2.2 Bahan-bahan.....	23
3.2.3 Alat Penelitian.....	24

3.3 Metode penelitian.....	24
3.3.1 Penyiapan Hewan Coba.....	24
3.3.2 Penyiapan dan Tahap penyuntikan bahan induksi.....	24
3.3.3 Tahap Perlakuan.....	25
3.4 Preparasi dan pembuatan preparat histologis.....	26
3.5 Variabel.....	26
3.6 Parameter Yang Diamati.....	27
3.7 Rancangan Penelitian.....	29
3.8 Analisis Data.....	29
Skema Penelitian.....	31
BAB 4 HASIL PENELITIAN	
4.1 Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Histopatologi.....	32
BAB 5 PEMBAHASAN.....	38
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan.....	46
6.2 Saran.....	46
RINGKASAN.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Fungsi Biologik Metabolik Asam Arakidonat.....	15
Tabel 3.1 Kandungan Asam Linoleat.....	25
Tabel 4.1 Rata – Rata Dan Simpangan Baku Skor Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Dari Masing-Masing Perlakuan.....	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Asam Linoleat.....	9
Gambar 2.2 Ringkasan Metabolisme Eukosanoid.....	10
Gambar 2.3 Sintesis Eukosanoid.....	12
Gambar 2.4 Skema Zona Histopatologi Pada Tulang Rawan Sendi.....	18
Gambar 2.4 Complete Freund's Adjuvant.....	22
Gambar 3.1 Sendi Tulang Rawan Persendian Normal.....	27
Gambar 3.2 Sendi Tulang Rawan Persendian Nekrotik.....	27
Skema penelitian.....	31
Gambar 4.1. Diagram batang (Grafik Perlakuan).....	34
Gambar 4.2 Mikroskopis Histopatologi P0.....	35
Gambar 4.3 Mikroskopis Histopatologi P1.....	35
Gambar 4.4 Mikroskopis Histopatologi P2.....	36
Gambar 4.5 Mikroskopis Histopatologi P3.....	36
Gambar 4.6 Mikroskopis Histopatologi P4.....	37
Gambar 4.7 Mikroskopis Histopatologi P5.....	37

ARTI SINGKATAN DAN LAMBANG

AL	= Asam linoleat
C	= Rantai Carbon
Kg	= Kilogram
BJ	= Berat jenis
°C	= Derajat celsius
ω	= Omega
Δ	= Increment
ml	= Mililiter
mg	= Miligram
\geq	= Lebih besar atau sama dengan
\leq	= Lebih kecil atau sama dengan
%	= Persen
HETE	= Hidroksieikosatetranoat
HPTE	= Hidroperoksieikosatetranoat
IACUC	= Institutional Animal Care and Use Comitee
LT	= Leukotrien
LTB ₄	= Leukotrien B ₄
LTC ₄	= Leukotrien C ₄
LTD	= Leukotrien D
LTE ₄	= Leukotrien E ₄
LX	= Lipoksin
PG	= Prostaglandin
PGE ₂	= Prostaglandin E ₂
PGI ₂	= Prostaglandin I ₂
TX	= Tromboksan
SPSS	= <i>Statistic Product Service Solution</i>
SRS-A	= <i>Slow reacting substance of anaphylaxis</i>

terdiri atas bahan hijauan dan konsentrat dalam imbangan yang memadai (Lammers *et al.*, 2003).

Dalam perkembangan dunia penelitian telah dikembangkan mengenai penelitian pakan komplit dengan formula pakan "Vetunair" yang telah terbukti bahwa, sapi yang diberikan formula pakan tersebut mampu menghasilkan susu dengan kandungan nutrisi yang meningkat (Romziah, 2007). Salah satu kandungan nutrisi susu yang meningkat adalah lemak susu. Khususnya lemak susu yang terdiri dari komponen asam lemak esensial yang dibutuhkan oleh manusia yaitu asam linoleat (Donagh *et al.*, 1999).

Pengolahan pakan komplit dengan formula tambahan berbeda terdiri dari 5 jenis pakan komplit yaitu F0 adalah pakan biasa sebagai kontrol yang terdiri dari konsentrat dan hijauan rumput, dan F1 hingga F4 merupakan pakan komplit yang terdiri dari konsentrat dan hijauan rumput dengan formula tambahan berbeda untuk tiap perlakuan. Komposisi dari formula tidak dapat disebutkan lebih jelas karena hal ini merupakan hak paten. Susu yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan mengandung asam linoleat yang berbeda yaitu F0 sebagai kontrol dan F1 hingga F4 dengan formula pakan komplit. Urutan kandungan asam linoleat dari yang tertinggi sampai terendah yaitu F1; 4,726%, F4; 2,104%, F2; 1,517, F3; 1,480, dan F0; 0,621% (Romziah, 2007).

Potensi asam linoleat sebagai nutrisi yang menyehatkan terus diteliti dan dalam perkembangan studi selanjutnya baik pada hewan percobaan, kultur sel maupun manusia. Asam linoleat selain memiliki daya cerna yang tinggi, juga merupakan benteng terhadap serangan reaksi radang dan mendukung

pertumbuhan bakteri baik yang bersifat prebiotik dan asam linoleat diharapkan dapat mempengaruhi reaksi inflamasi/keradangan, penyakit jantung, diabetes dan kegemukan, serta dapat menstimulasi fungsi imun dan faktor pertumbuhan (Galuh, 2003).

Untuk membuktikan potensi asam linoleat dalam susu sapi berdasarkan penjelasan di atas maka peneliti mencoba memberikan susu tersebut sebagai terapi alami pada penyakit radang. Salah satu penyakit radang yang populer adalah artritis. Artritis merupakan penyakit radang yang menyerang komponen sendi diantaranya tulang rawan sendi. Artritis merusak tulang rawan sendi yang menyebabkan rasa sakit, bengkak (radang), dan kaku (Gonter, 2008).

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka peneliti ingin mengetahui potensi susu dengan kadar asam linoleat berbeda, terhadap gambaran histopatologi sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi bahan pemicu artritis sehingga tikus tersebut menjadi *suspect* artritis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian tersebut timbul masalah sebagai berikut:

Apakah potensi asam linoleat dalam susu dapat mempengaruhi pemulihan jaringan (kesembuhan) yang dapat dilihat dari perubahan gambaran histopatologi tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) *suspect* artritis?

1.3 Landasan Teori

Menurut Gaman dan Sherington (1992) susu tersusun dari berbagai nutrien, baik yang terlarut dalam air maupun terdispersi dalam bentuk koloid. Sistem koloid tersebut bersifat kompleks, tetapi pada dasarnya merupakan emulsi lemak alam. Susu mengandung 8 jenis asam lemak yaitu asam lemak laurat (AL C12), asam lemak miristat (C14) dan asam lemak palmitat (C16). Sementara sisanya (65%) terbukti adalah asam lemak yang memiliki efek yang sempurna terhadap kesehatan tubuh.

Komponen penyusun susu yang utama adalah lemak. Lemak susu mengandung beberapa komponen bioaktif yang berperan dalam proses peradangan (*inflammation potential*) diantaranya adalah asam linoleat (*linoleic acid*). Asam linoleat adalah asam lemak tidak jenuh berantai banyak yang tergolong asam lemak esensial. Asam linoleat penting untuk tubuh dan tidak dapat disintesis sendiri dalam tubuh, oleh karena itu harus diperoleh dari makanan. Bagi manusia asam linoleat adalah asam lemak esensial yang merupakan sebutan bagi asam lemak yang tidak dapat dibuat sendiri dan tidak dapat mencukupi kebutuhan minimal dari suatu spesies (hewan atau manusia). Hal ini terjadi karena spesies yang bersangkutan tidak memiliki (atau memiliki tetapi kurang fungsional) enzim yang bertanggung jawab dalam melakukan sintesis asam lemak tersebut (Made, 2005).

Asam linoleat diperlukan untuk sintesis eukasonoid. Eukosanoid ikut serta dalam berbagai proses peradangan didalam tubuh, terutama respon peradangan yang terjadi setelah infeksi atau cedera. Eukosanoid merupakan metabolis dari

asam linoleat yang merupakan mediator kimiawi dalam proses peradangan. Mediator kimiawi merupakan faktor pendukung berlangsungnya proses peradangan yang mengarahkan aneka kejadian yang terjadi pada vaskular dan sel. Sebagai mediator eukasonoid memiliki peran bagi kelangsungan hidup organisme. Sintesis eukosanoid meningkat di tempat terjadinya respon peradangan, dan agen yang menghambat sintesisnya juga mengurangi inflamasi (Robbins dkk., 2007).

Sendi merupakan organ tubuh yang unik, karena dapat terserang atau berhubungan dengan berbagai penyakit. Hingga saat ini telah dikenal lebih dari seratus penyakit sendi. Sebagian diantaranya menyerang langsung komponen sendi, yang dikenal dengan artritis, seperti pada artritis reumatoid yang menyerang sinovia, penyakit sendi degeneratif (osteoarthritis) yang merusak tulang rawan sendi, menumpuknya kristal asam urat pada penyakit gout; pada sebagian lain didapatkan sinovitis yang tidak khas dan berbagai keadaan lain yang belum jelas gambaran patologiknya (Isbagio, 2000). Sendi merupakan suatu engsel yang membuat anggota tubuh dapat bergerak dengan baik, juga merupakan suatu penghubung antara ruas tulang yang satu dengan ruas tulang lainnya (Underwood, 2000).

Artritis adalah penyakit radang sendi yang ditandai dengan adanya inflamasi pada sendi. Inflamasi ini menyebabkan hilangnya bentuk dan fungsi dari sendi, sehingga mengakibatkan nyeri, kaku dan bengkak, yang mengarah pada terjadinya kerusakan dan kehilangan fungsi sendi yang permanen. Ciri khusus dari artritis adalah kemerahan, kaku, nyeri dan terbatasnya gerakan pada sendi di tangan, kaki, siku, lutut dan leher (Wijayakusuma, 2008).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membuktikan potensi asam linoleat dalam susu terhadap penyembuhan penyakit radang melalui pengamatan histopatologi tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) *suspect* arthritis.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui potensi asam linoleat dalam susu, terhadap gambaran histopatologi sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) *suspect* arthritis.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada peneliti dan peternak serta masyarakat terhadap potensi susu dengan kandungan asam linoleat tertinggi dalam mengurangi dan menghambat arthritis.
3. Memperkaya kasanah terapi terhadap arthritis dan menekan biaya perawatan bagi penderita arthritis.

1.6 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

Potensi asam linoleat dalam susu dapat mempengaruhi proses penyembuhan radang arthritis melalui pengamatan histopatologi tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) *suspect* arthritis.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu

Susu merupakan suatu sekresi yang komposisinya sangat berbeda dari komposisi darah yang merupakan sumber pembuat susu. Misalnya lemak susu, kasein dan laktosa yang disintesa oleh alveoli dalam ambing (Buckle *et al.*, 1987). Susu termasuk jenis bahan pangan hewani, berupa cairan putih yang dihasilkan oleh sapi sebagai hewan ternak mamalia, dan diperoleh dengan cara pemerahan (Hadiwiyoto, 1983). Faktor yang mempengaruhi komposisi susu adalah laktose sebagai sumber energi, protein sebagai bahan penunjang kehidupan untuk hidup pokok, pertumbuhan atau pergantian sel, lemak sebagai penyusun membran, serta mineral dan vitamin.

2.1.1 Sifat Fisik dan Kimia Susu

Menurut Buckle *et al.*, (1987) sifat fisik susu diantaranya adalah warna susu yang dapat berubah dari satu warna ke warna yang lain, tergantung dari bangsa ternak, jenis pakan, jumlah lemak, bahan padat dan bahan pembentuk warna. Warna putih dari susu merupakan hasil dispersi dari refleksi cahaya oleh globula lemak dan partikel koloidal dari kasein dan kalsium fosfat. Warna kuning adalah karena lemak dan karoten yang dapat larut. Sifat fisik susu yang kedua adalah rasa dan bau susu. Kedua komponen ini erat sekali hubungannya dalam menentukan kualitas susu. Susu terasa sedikit manis, yang disebabkan oleh laktosa, sedangkan rasa asin berasal dari klorida, sitrat dan garam-garam mineral

lainnya. Sifat fisik susu yang ketiga adalah berat jenis susu dan kekentalan susu. Susu mempunyai berat jenis yang lebih besar daripada air. BJ susu = 1.027-1.035 dengan rata-rata 1.031. Akan tetapi menurut codex susu, BJ susu adalah 1.028. Sifat kimia susu diantaranya keasaman dan pH susu. Susu segar mempunyai sifat ampoter, artinya dapat bersifat asam dan basa sekaligus.

2.1.2 Komposisi Susu

Menurut Gaman dan Sherrington (1992), Komponen-komponen susu yang terpenting adalah protein dan lemak. Kandungan energi adalah 65 kkal, dan pH susu adalah 6,7. Komposisi susu rata-rata adalah sebagai berikut : air (87,60%), lemak (3,8%), karbohidrat (4,7%), protein (3,20%), vitamin dan mineral (0,7 %).

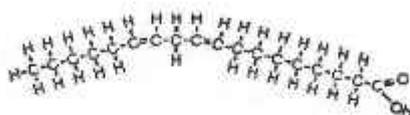
2.2. Asam Linoleat

2.2.1 Sumber Asam Linoleat

Sumber makanan yang kaya akan asam linoleat adalah susu, produk olahan susu seperti yoghurt dan keju, serta daging. Asam linoleat merupakan produk hidrogenasi asam lemak tidak jenuh yang dilakukan oleh mikroba dalam rumen (perut khusus) pada hewan memamah biak seperti sapi. Hidrogenasi ini tidak selesai dan keluar dari rumen untuk kemudian diserap dari saluran cerna dan masuk dalam air susu (Murwani, 2002).

2.2.2 Struktur Asam Linoleat

Asam lemak tidak jenuh sebagai komponen lemak dan minyak telah banyak dikenal. Asam lemak tidak jenuh adalah asam monokarboksilat berantai lurus yang terdapat di alam sebagai ester di dalam molekul lemak yang memiliki ikatan rangkap (Jansen dkk., 2002).



Gambar 2.1 Struktur Asam Linoleat (Venom, 2003).

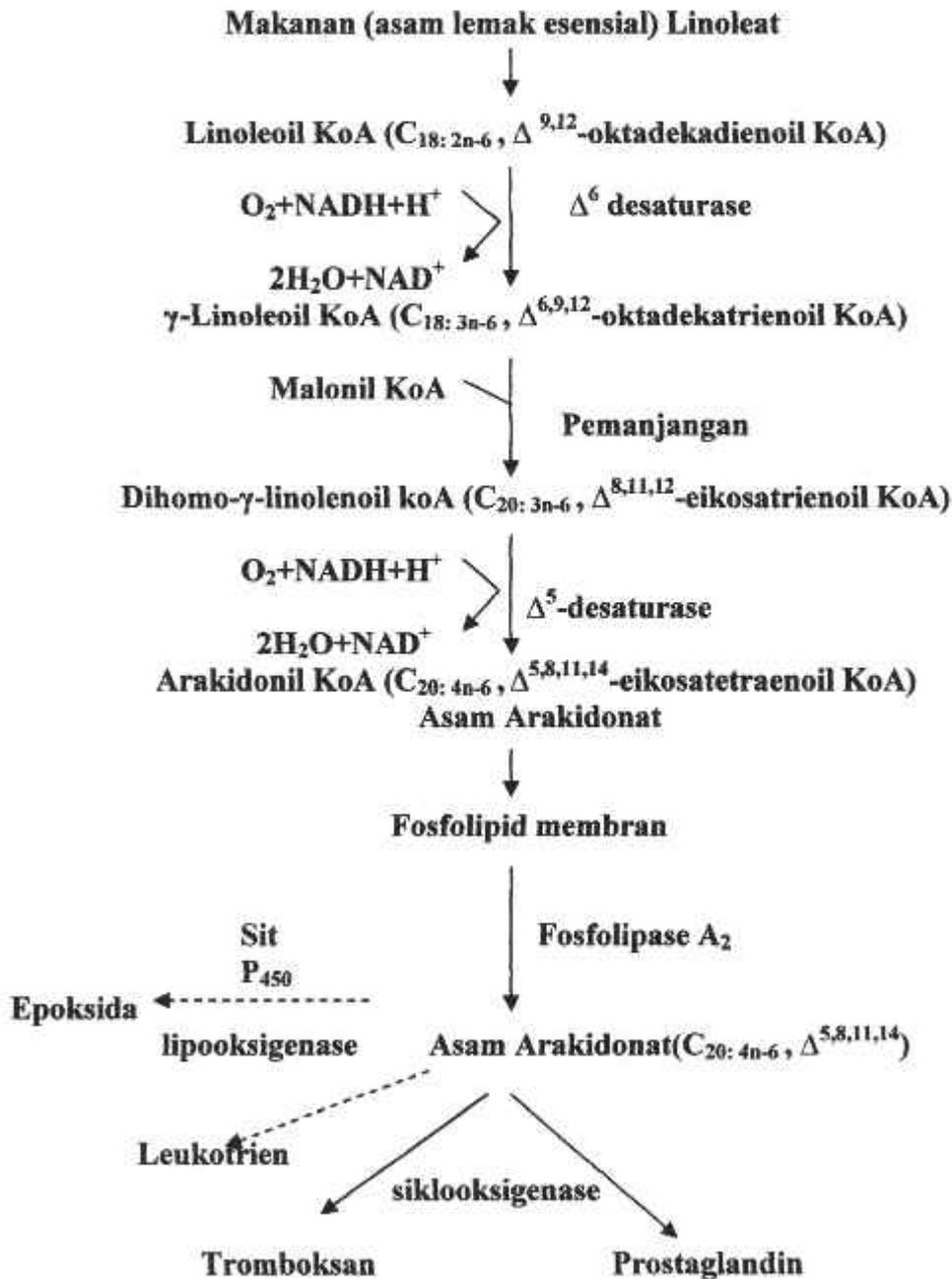
Sebagai contoh adalah asam linoleat yang memiliki rantai karbon sebanyak 18 dan mengandung dua ikatan rangkap yang dihitung dari gugus karboksil, pada atom karbon nomor 9 dan 10 serta 12 dan 13 (Murwani, 2002). Ikatan rangkap ini yang menyebabkan asam linoleat disebut asam lemak tidak jenuh. Selama masih tersedia asam linoleat dalam jumlah mencukupi, mamalia dapat mensintesis asam lemak esensial lainnya yang diperlukan. (Montgomery *et al.*, 1993).

2.2.3 Asam Linoleat sebagai prekursor pembentukan Eukosanoid

Menurut Montgomery *et al.*, (1993) Asam linoleat terutama berfungsi sebagai sinyal untuk merangsang produksi eukosanoid yang berikatan dengan reseptor di membran sel dan mengaktifkan fosfolipase. Fosfolipase berperan memutuskan asam lemak *polyunsaturated* tersebut dari fosfolipid membran sel.

Prekursor eukosanoid yang paling banyak dan juga paling umum adalah asam arakidonat (asam eikosatetranoat $20;4,\Delta^{5,8,11,14}$), suatu asam lemak dengan

20 atom karbon dan 4 ikatan rangkap. Asam ini teresterifikasi ke fosfolipid yang terletak di lapis-ganda (bilayer) lemak yang membentuk membran plasma sel (Marks *et al.*, 2000).



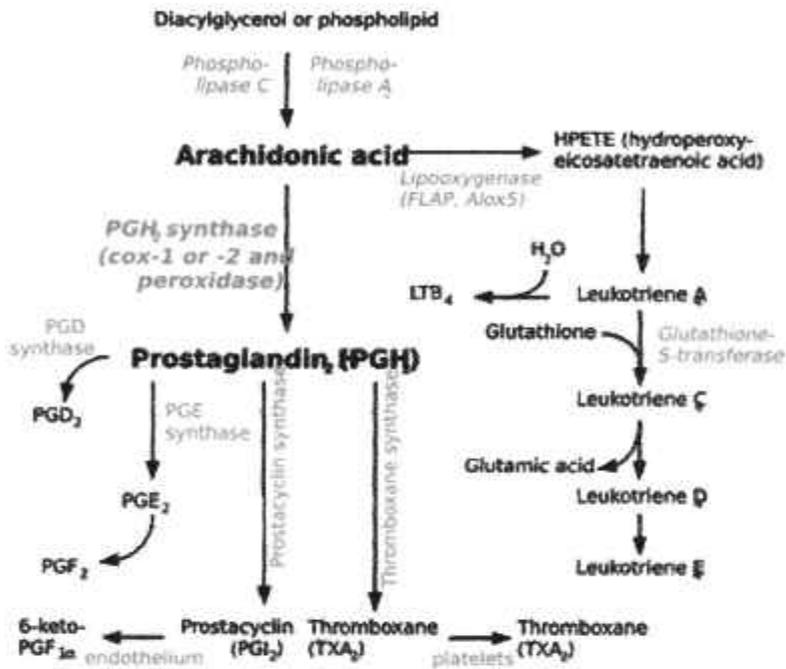
Gambar 2.2 Ringkasan Metabolisme Eikosanoid (Marks *et al.*, 2000).

Asam arakidonat merupakan suatu asam lemak tak jenuh dengan 20 atom karbon (4 rantai ganda) yang terutama berasal dari asam linoleat makanan dan terdapat di dalam tubuh, terutama dalam bentuk ester sebagai suatu komponen fosfolipid membrane sel. Asam arakidonat dilepaskan dari fosfolipid ini melalui fosfolipase sel yang telah diaktifkan oleh rangsang mekanik, biologik, atau fisik. Proses metabolisme asam arakidonat terjadi melalui satu atau dua jalur utama : siklooksigenase, yang menyintesis prostaglandin dan tromboksan, dan lipooksigenase yang menyintesis leukotrien dan lipoksin (Robins dkk, 2007).

2.2.4 Fungsi Asam Linoleat Bagi Kesehatan

Asam linoleat berperan dalam inflamasi, anti-oksidan, dan meningkatkan sistem pertahanan tubuh, membangun struktur sel dan berkenaan dengan integritas struktural membran mitokondria serta kontrol lemak dalam perkembangan tubuh. Asam linoleat menghasilkan senyawa eukasanoid yang merupakan mediator kimiawi dalam proses peradangan, senyawa eukasanoid adalah senyawa dengan keaktifan fisiologis serta farmakologis dan dikenal dengan prostaglandin (PG), tromboksan (TX), leukotrien (LT), dan lipoksin (LX) (Mayes, 2003).

Secara fisiologis, semua senyawa eukasanoid dapat dianggap sebagai hormon lokal yang berfungsi lewat reseptor yang berkaitan dengan protein-G untuk menimbulkan efek biokimiannya (Mayes, 1999). Asam linoleat juga dapat memelihara fungsi normal membran sel, dan berperan dalam proses fosforilasi oksidatif maupun sarana komunikasi antar sel dalam organ tubuh (Montgomery *et al.*, 1993).



Gambar 2.3 Sintesis Eukosanoid

(Sumber : <http://www.sciencedirect-eukosanoid.com>)

Asam arakidonat yang terdapat di fosfolipid membran dilepaskan dari lapis-ganda lemak akibat pengaktifan fosfolipase A₂ atau C yang melekat ke membrane. Pengaktifan ini terjadi apabila aneka stimuli (agonis), misalnya histamine dan sitokin, berinteraksi dengan reseptor membran plasma spesifik pada permukaan sel sasaran (Marks *et al.*, 2000). Selanjutnya lintasan metabolisme asam arakidonat tersebut menunjukkan divergensi membentuk dua lintasan yaitu lintasan-lintasan siklooksigenase dan lipooksigenase. Lintasan siklooksigenase menghasilkan produk berupa endoperoksida (PGH₂) yang akan diubah menjadi prostaglandin. Prostaglandin akan diubah menjadi produk-produk prostaglandin, prostasiklin dan tromboksan. Pada jalur yang ke dua akan menghasilkan HPETE, leukotrien, dan lipoksin (Mayes, 2003).

Menurut Venom (2003), senyawa eukasanoid yang dihasilkan oleh asam linoleat adalah prostaglandin, tidak seperti kebanyakan hormon yang disirkulasi oleh darah yang berfungsi memberikan efek pada jaringan dari kelenjar yang spesifik, prostaglandin memberikan efek lokal pada daerah dimana hormon ini disintesis. Secara biologis hormon ini adalah hormon lemak aktif yang ditemukan di dalam plasma membran hampir di setiap sel, hormon ini memonitor aktivitas seluler. Prostaglandin dan reseptornya memiliki pengaruh dalam proses metabolisme tubuh yaitu mengontrol respon lokal hormon, pembekuan darah, reaksi inflamasi, luka, demam, sistem saraf, metabolisme kalsium dan banyak lainnya. Tromboksan adalah hormon yang mirip dengan prostaglandin. Hormon ini dapat membantu mengurangi pendarahan pada saat luka, berperan dalam pembekuan darah, dan memiliki peran menjaga homeostasis (Bellanti, 1993).

Leukotrien mempengaruhi potensial aksi yang penting pada organ dan sistem. Termasuk pada proses regulasi sel darah putih, kontraksi otot polos, membantu dalam sistem imun, sistem saraf dan, sistem kardiovaskuler. Leukotrien dan lipoksin merupakan regulator yang poten terhadap banyak proses penyakit berkaitan dengan zat anafilaksis yang bereaksi-lambat (SRS-A; slow reacting substance of anaphylaxis) merupakan campuran leukotrien C₄, D₄ dan E₄. Campuran leukotrien ini 100-1000 kali lebih poten daripada histamin atau prostaglandin sebagai konstriktor otot saluran bronkus. Senyawa leukotrien ini bersama dengan leukotrien B₄ juga menyebabkan permeabilitas vaskular dan penarikan serta pengaktifan leukosit; senyawa leukotrien tampak pula sebagai regulator yang penting pada banyak penyakit yang melibatkan reaksi inflamasi

atau hipersensitivitas-segera, seperti pada asma. Senyawa leukotrien bersifat vasoaktif, dan enzim 5-lipoksigenase ditemukan pada dinding pembuluh arteri. Bukti yang ada mendukung peranan lipoksin pada fungsi vasoaktif dan imunoregulasi, seperti misalnya senyawa kontra-regulasi (chalcones) pada respons imun (Marks *et al.*, 2000).

Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa eukosanoid yang merupakan derivat asam arakidonat terutama prostaglandin E₂ (PGE₂) dan leukotrien B₄ (LTB₄) mempunyai peran dalam fungsi imun. PGE₂ mempunyai aktivitas inflamasi yang meliputi terjadinya demam, peningkatan permeabilitas vaskuler, vasodilatasi pada tempat terjadinya trauma sehingga meningkatkan transudasi plasma pada daerah tersebut. PGE₂ juga memiliki peran dalam apoptosis sel T yang mempengaruhi maturasi dan aktivasi sel. Apoptosis adalah kematian sel terprogram atau kematian sel alamiah yang merupakan mekanisme penting yang bertanggung jawab dalam fungsi imun. Pada keadaan terjadi produksi PGE₂ yang tidak terkontrol maka akan terjadi depresi imunitas seluler yang berlebihan dan peningkatan kepekaan terhadap infeksi (Bellanti, 1993).

Leukotrien B₄ mempunyai beberapa aktivitas yang sama dengan PGE₂. Leukotrien B₄ dapat meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga meningkatkan aliran darah dan juga dapat menghambat proliferasi limfosit. Namun leukotrien B₄ juga mempunyai aktivitas yang berbeda dengan prostaglandin E₂. Leukotrien B₄ dapat meningkatkan sel natural killer, meningkatkan produksi faktor nekrosis tumor (FNT)- β , interleukin 1,2,6 dan interferon. Di samping itu, leukotrien B₄ merupakan mediator kemotaktik dan kemokinetik yang poten menstimulasi

migrasi dan aktifitas granulosit. Keadaan ini memudahkan perlekatan granulosit dengan dinding pembuluh darah, degranulasi, pelepasan enzim lisosomal dan superoksida, serta meningkatkan fagositosis netrofil dan makrofag (Bellanti, 1993).

Fungsi-fungsi biologik leukotrin meliputi aktivitas kemotaktik terkait dengan LTB_4 (sedikit 5 HETE), LTC_4 , LTD , LTE_4 . Prostaglandin E_2 dan I_2 juga mempengaruhi respon fungsional dengan aneka macam leukosit. Secara umum, seluruh sistem metabolit asam arakidonat termasuk area kompleks dari lipida aktif secara biologik dengan banyak aktivitas proinflamatoris (Bellanti, 1993).

Fungsi imun yang paling penting dari metabolit asam arakidonat ditunjukkan pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Fungsi Biologik Metabolik Asam Arakidonat (Bellanti, 1993).

Metabolit	Fungsi Biologik
LTC_4 , LTD , LTE_4 (SRS-A)	Penambahan permeabilitas vaskuler dan sekresi mukus
LTB_4	Adhesi dan kemotaksis leukosit, perangsangan neutrofil: agregasi, pelepasan enzim, pembangkitan superoksida
Tomboksan A_2	Agregasi trombosit
PGE_2	Vasodilatasi dan edema
PGI_2	Anti agregasi pada trombosit
PGF_2	Vasokonstriksi

Keberadaan asam linoleat yang memiliki banyak fungsi bagi kesehatan tubuh. Asam lemak ini merupakan jenis asam lemak esensial bagi nutrisi yang lengkap pada banyak spesies hewan, termasuk manusia, dan dengan demikian harus didapat dari makanan, sehingga kedua asam lemak tersebut dikenal sebagai asam lemak esensial dari sudut nutrisi. Hewan tidak mampu mensintesis asam linoleat (ω^6) karena sistem enzim desaturase yang diperlukan tidak ada, maka kedua asam ini harus diperoleh dari makanan untuk melaksanakan sintesis anggota lainnya dari asam lemak tak jenuh berganda (Mayes, 1999).

2.3 Karakteristik Sendi Dalam Aktivitas Mahluk Hidup

2.3.1 Anatomi-Fisiologi Sendi

Sebagian besar sendi adalah sendi sinovial termasuk sendi metatarsal. Permukaan tulang yang bersendi diselubungi oleh tulang rawan yang lunak dan licin. Keseluruhan daerah sendi dikelilingi sejenis kantong, terbentuk dari jaringan berserat yang disebut kapsul. Jaringan ini dilapisi membran sinovial yang menghasilkan cairan sinovial untuk “meminyaki” sendi. Bagian luar kapsul diperkuat oleh ligamen berserat yang melekat pada tulang, ligamen ini menahan tulang kuat-kuat di tempatnya dan membatasi gerakan yang dapat dilakukan. Sendi yang melapisi ujung-ujung tulang mempunyai fungsi ganda yaitu untuk melindungi ujung tulang agar tidak aus dan memungkinkan pergerakan sendi menjadi mulus/licin, serta sebagai penahan beban dan peredam benturan (Leeson, 1996).

Menurut Junqueira (1998) agar sendi berfungsi baik, maka diperlukan matriks sendi. Matriks terdiri dari 2 tipe makromolekul, yang pertama yaitu proteoglikan yang meliputi 10% berat kering tulang rawan sendi dan, mengandung 70-80% air. Hal inilah yang menyebabkan sendi tahan terhadap tekanan. Tipe kedua adalah kolagen dimana komponen ini meliputi 50% berat kering tulang rawan sendi, sangat tahan terhadap tarikan. Makin kearah ujung tulang rawan sendi semakin tebal, sehingga tulang rawan sendi yang tebal kolagennya akan tahan terhadap tarikan disamping itu matriks juga mengandung mineral, air, dan zat organik lain seperti enzim.

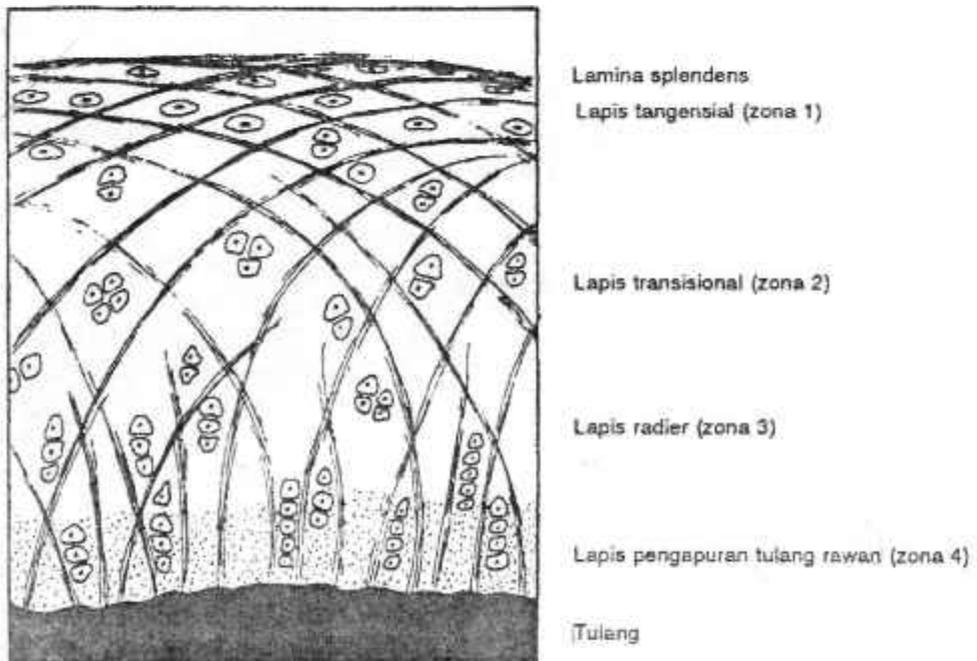
2.3.2 Tulang Rawan Sendi Sebagai Komponen Penunjang Sendi

Tulang rawan hialin adalah jaringan tulang rawan yang menutupi kedua ujung tulang. Tulang rawan ini tidak memiliki serat saraf atau pembuluh darah. Tulang rawan sendi mengubah ujung-ujung sendi tulang menjadi permukaan-permukaan yang licin dan memperlihatkan gesekan yang sangat sedikit selain itu juga elastis, karena itu dapat menahan tekanan sedikit. Tulang rawan hialin berguna untuk menjaga benturan.

Menurut Geneser (1994) secara histologis, tulang rawan sendi strukturnya bervariasi dan dibagi menjadi 4 zona yaitu :

Di lapisan permukaan atau lapisan tangensial (zona 1), terdapat kondrosit kecil dan gepeng yang sejajar dengan permukaan. Bagian yang paling luar sering disebut lamina splendens (menyebar) yang berisi mikrofibril-mikrofibril kolagen yang sangat tipis. Di lapisan transisional (zona 2), kondrosit lebih besar dan lebih

bulat. Sel-sel ini dapat tunggal atau membentuk kelompok isogen. Di lapisan radial (zona 3), kondrosit bulat, besar membentuk kolom-kolom tegak lurus pada permukaan. Fibril-fibril kolagen berjalan radier diantara kolom-kolom Lapisan yang paling dalam yaitu lapisan tulang rawan yang berkalsifikasi (zona 4), terletak pada korteks tulang kompakta dalam epifisis di bawahnya.



Gambar 2.4 Skema Zona Histologik Pada Tulang Rawan Sendi (Geneser, 1994).

2.4 Spesifikasi Arthritis

Arthritis atau radang sendi merupakan istilah dari rematik artikuler (mengenai sendi), dikenal dalam berbagai bentuk, diantaranya yang paling umum yaitu arthritis reumatoid, osteoarthritis, dan gout (arthritis pirai). Semua bentuk arthritis bermula dengan teradangnya jaringan-jaringan halus seperti jaringan ikat, ligamen, dan tendo dekat tulang sendi (Wijayakusuma, 2008).

Menurut Darwin (2004), inflamasi pada artritis merupakan suatu respon yang terjadi untuk melindungi tubuh dari penyebab kerusakan sel seperti mikroba atau toksin. Dan konsekuensi dari kerusakan sel tersebut seperti nekrosis sel atau jaringan. Respon inflamasi ini melibatkan pembuluh darah, plasma, sel dalam sirkulasi, (netrofil, monosit, eosinofil, limfosit, basofil dan trombosit), sel di jaringan ikat (sel mast, fibroblas, makrofag, dan limfosit). Secara klinis respon inflamasi memperlihatkan gejala klasik yaitu: *rubor* (warna kemerahan), *tumour* (adanya pembengkakan), *calor* (rasa panas), *dolor* (nyeri), *functio laesa* (gangguan fungsi).

2.4.1 Etiologi

Pembagian artritis berdasarkan eksudatnya adalah *arthritis non infectiosa* dan *arthritis infectiosa*. *Arthritis non infectiosa* ialah artritis yang di timbulkan oleh trauma dan bukan oleh kuman-kuman. *Arthritis infectiosa* disebabkan oleh kuman-kuman atau toksin-toksin yang bersirkulasi. Kuman-kuman yang dapat menyebabkan artritis adalah kokkus, *pasteurella*, dan kuman-kuman *pyogenes* (McGavin *et al.*, 2007).

2.4.2 Gambaran Klinikopatologis

Perubahan utama pada artritis adalah radang sinovitis dan erosi kartilago (tulang rawan sendi) artikuler yang progresif. Infiltrat sinovia mencakup limfosit, sel plasma, makrofag dan kadang-kadang polimorf. Pada stadium awal di temukan kenaikan jumlah sel radang yang ringan namun pada penyakit yang sudah

terbentuk akan ditandai dengan adanya massa noduler besar dari limfosit dan makrofag. Granuloma biasanya tidak ditemukan pada sinovia tetapi mungkin pada kapsula sendi di dekatnya. Lapisan jaringan ikat mengalami radang kronis (panus) secara perlahan melebar dari tepi sinovia mengikis kartilago artikuler (Underwood, 2000).

Perubahan histopatologis tulang rawan sendi yaitu terdapat kerusakan-kerusakan yang terjadi akibat proses peradangan sehingga tulang rawan sendi tidak lagi utuh namun mengalami destruksi pada tiap bagiannya (McGavin *et al.*, 2007). Tulang rawan sendi juga memperlihatkan jumbai, penipisan yang tidak teratur, dan disintegrasi kartilago yang mengalami degenerasi, dapat terlepas dan mungkin dapat terlihat sebagai badan intraartikularis yang terapung bebas (*joint mice*) (Liu *et al.*, 2009)

Permukaan tulang sendi yang terkelupas dilapisi oleh jaringan fibrosa yang sering memperlihatkan perubahan-perubahan degeneratif misalnya kista dan restrukturisasi trabekula. Gejala klinis artritis diantaranya adalah persendian terasa kaku bila digerakan, adanya pembengkakan pada salah satu atau beberapa persendian berwarna kemerah-merahan, demam, dan kelelahan yang menyertai rasa sakit pada persendian (Damjanov, 1998).

2.5 Adjuvant

Adjuvant adalah substansi-substansi tertentu yang dapat meningkatkan secara tidak spesifik efektifitas imunologis dari agen pengimunisasi. *Adjuvant* mempunyai sifat-sifat tertentu sebagai karakteristiknya terutama membuat depot

antigen dan melepas antigen sedikit demi sedikit sehingga memperpanjang pemaparan antigen dengan sistem imun, serta memacu sistem imun dengan afinitas tinggi (Baratawidjaja, 2002).

Salah satu *adjuvant* yang paling sering digunakan adalah *Complete Freund's Adjuvant (CFA)*. CFA sebagai penginduksi artritis dengan hewan coba tikus telah terbukti dan sangat luas digunakan sebagai model laboratorium dalam berbagai kasus artritis (Nagakura *et al.*, 2003). Suntikan berisi CFA dapat diberikan secara intradermal karena pada daerah intradermal dapat mengakibatkan terjadinya proses inflamasi yang lebih hebat daripada daerah lain, sehingga setelah 30 hari dapat dipastikan benar-benar terjadi artritis (Sri dan Endang, 2006).

Penggunaan CFA harus sesuai dengan ketentuan yang diberlakukan oleh Animal Care Committee (ACC) dan IACUC, yang mengeluarkan kebijakan mengenai tatacara penggunaan CFA. Ketentuan penggunaan CFA pada tikus adalah tidak lebih dari 0,1 ml/kali penyuntikan, hewan tersebut diperbolehkan disuntik adjuvan kembali minimal dalam interval dua minggu setelah penyuntikan sebelumnya. Menurut Institutional Policies and Guidelines on Adjuvants and Antibodi Production, penyuntikan CFA pada tikus secara intradermal adalah sebanyak 0,05 ml/situs (Jackson, L.R., and J.G. Fox, 1995).

Complete Freund's adjuvant terdiri atas campuran minyak mineral dan pengemulsi dengan air yang mengandung komponen dinding sel mikrobakteria (Smith, 1995). CFA digunakan sebagai agen yang memiliki kemampuan memicu respon imun tubuh (Lorenzo, 2009). Kehadiran minyak mendorong terjadinya jaringan granuloma di sekitar tempat penyuntikan, antigen di lepaskan perlahan-

lahan dari fase air dalam emulsi sehingga terbentuk suatu depot. Bagian aktif dari mikobakteria (*Complete Freund's adjuvant*) adalah miramil dipeptida yang akan meningkatkan aktivitas pembentukan jaringan granuloma. *Complete Freund's adjuvant* juga berfungsi meningkatkan imunoglobulin G (IgG) daripada imunoglobulin M (IgM) (Tizard,1988).



Gambar 2.5 *Freund's Adjuvant*.

Sesuai gambar diatas setiap mililiter *Complete Freund's Adjuvant* Sigma dengan kode F5881 mengandung 1 mg *mycobacterium tuberculosis* (strain H37Ra, ATCC 25177), 0,85 ml paraffin oil dan 0,15 ml mannide monooleat (Sigma, 2002).

BAB 3 MATERI DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Unit Pelayanan Kandang Hewan Penelitian Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Untuk pembuatan serta pengamatan sediaan histopatologis sendi metatarsal tikus putih dilaksanakan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Waktu pelaksanaan penelitian berlangsung selama kurang lebih 1 bulan yaitu bulan September sampai Oktober 2008.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan sebanyak 24 ekor, dengan berat badan 200 gram, dan berumur rata-rata tiga bulan.

3.2.2 Bahan-bahan

Bahan utama sebagai bahan dasar yang diperlukan dalam penelitian ini adalah susu sapi dengan kandungan asam linoleat dalam susu formula F0, F1, F2, F3, F4 dan *Complete Freund's Adjuvant*, makanan tikus berupa pellet, air minum, sekam, dan kapur untuk alas kandang, blok parafin, *Buffer Formalin*, Eter, hemaktosilin eosin.

3.2.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang, plastik dan kasa kawat, tempat makan dan minuman tikus, sarung tangan plastik, kertas saring, alat suntik 1,0 ml dan 3.0 ml (terumo syringe disposable non pyrogenik).

3.3 Metode penelitian

3.3.1 Penyiapan Hewan Coba

Random sampel memperhatikan, umur tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang digunakan 3 bulan dengan berat rata-rata 200 gram, dan jenis kelamin jantan. Hewan coba dipelihara dalam bak plastik beralas sekam dengan tutup kasa kawat dan diletakkan dalam kandang 4 x 5 meter. Masa adaptasi hewan coba selama satu minggu.

3.3.2 Tahap Penyiapan dan penyuntikan bahan induksi

Penyiapan sediaan larutan untuk *Complete Freund's Adjuvant* untuk induksi sel arthritis. Penyuntikan pertama : Induksi dilakukan dengan menyuntikkan 0,1 ml *Complete Freund's Adjuvant* secara intradermal pada pangkal ekor tikus. Penyuntikan kedua : induksi dilakukan setelah 14 hari dengan menyuntikkan 0,1 ml *Complete Freund's Adjuvant*, masing-masing 0,05 ml pada kedua kaki belakang (kaki kiri dan kaki kanan) secara intradermal (Aulia, 2008).

3.3.3 Tahap Perlakuan

Perlakuan dilakukan setelah penyuntikan bahan induksi artritis dalam waktu satu bulan setelah penyuntikan kedua. Perlakuan diberikan pada masing-masing hewan coba (tikus putih) dengan memberikan susu perlakuan secara peroral yang diberikan 2x sehari dengan takaran dalam tempat air minum sebanyak 30ml/1x pemberian tiap pagi dan sore. Perlakuan diberikan sebanyak *ad libitum* selama 30 hari

Pemberian susu perlakuan tersebut adalah dengan memberikan susu ke setiap hewan coba sesuai perlakuannya yaitu perlakuan P₀, P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ yang diberi perlakuan menggunakan susu mengandung asam linoleat dengan kandungan terendah hingga tertinggi.

Tabel 3.1 Kandungan Asam Linoleat Dalam Susu

Perlakuan	F ₀	F ₃	F ₂	F ₄	F ₁
Kadar asam linoleat (%)	0,621	1,480	1,517	2,104	4,726

(Sumber : Romziah, 2008)

Masing-masing tikus diberi minum susu sesuai dengan kelompok perlakuannya dengan dosis *ad libitum* setiap hari selama satu bulan percobaan.

Kelompok perlakuan dibuat sebagai berikut :

1. Kelompok perlakuan I (P₀) : Kelompok tikus *suspect* artritis yang diberikan air.

2. Kelompok perlakuan II (P_1) : Kelompok tikus *suspect* arthritis yang diberikan susu sapi F0 (kandungan asam linoleat 0,621%).
3. Kelompok perlakuan III (P_2) : Kelompok tikus *suspect* arthritis yang diberikan susu sapi F3 (kandungan asam linoleat 1,480%).
4. Kelompok perlakuan IV (P_3) : Kelompok tikus *suspect* arthritis yang diberikan susu sapi F2 (kandungan asam linoleat 1,517%).
5. Kelompok perlakuan V (P_4) : Kelompok tikus *suspect* arthritis yang diberikan susu sapi F4 (kandungan asam linoleat 2,104%).
6. Kelompok perlakuan V (P_5) : Kelompok tikus *suspect* arthritis yang diberikan susu sapi F1 (kandungan asam linoleat 4,726%).

3.4 Preparasi dan pembuatan preparat histopatologis

Preparasi dilakukan setelah hewan coba dianastesi dengan eter (euthanasia). Sendi dari tikus-tikus diambil dan disimpan dalam cairan *Buffer Formalin* untuk persiapan pembuatan blok parafin. Setiap sampel dibuat sebagai preparat histopatologis dengan posisi memanjang menurut standar Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Dari masing-masing sampel, diwarnai dengan pewarnaan hemaktosilin eosin.

3.5 Variabel

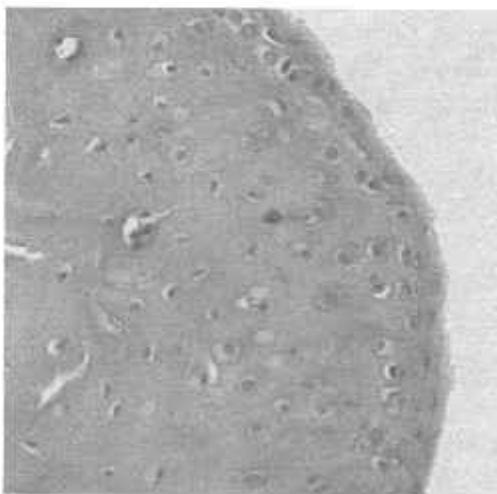
Beberapa variabel penelitian yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi:

1. Variabel Bebas : Kelompok P_0 , P_1 , P_2 , P_3 , P_4 , P_5 yang diberi perlakuan menggunakan susu yang mengandung asam linoleat berbeda.

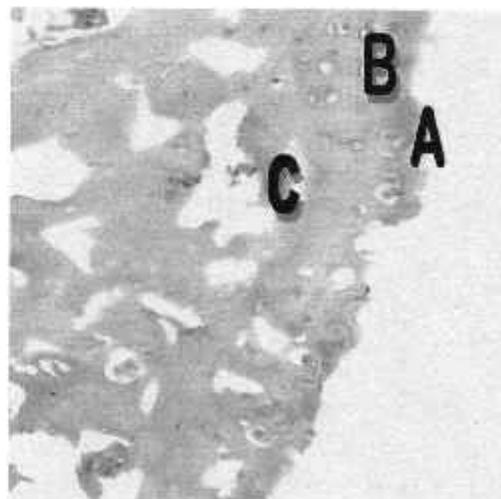
2. Variabel Tergantung : Perubahan histopatologi sendi metatarsal tikus putih yang distimulasi menjadi *suspect* artritis.
3. Variabel Terkendali : Keseragaman dari seluruh faktor yang dapat mempengaruhi semua perlakuan, antara lain umur tikus *Rattus norvegicus*, keberadaan kandang, pakan dasar/ bahan makanan, induksi artritis dan, teknik pengambilan jaringan, serta pewarnaan preparat.

3.6 Parameter Yang Diamati

Parameter yang diamati adalah pemeriksaan preparat histopatologi tulang rawan sendi yang dilakukan dengan menentukan skor yang dibuat berdasarkan perbandingan gambaran mikroskopis tulang rawan persendian (*articular cartilage*) antara tikus normal (gambar 3.1) dan yang mengalami nekrotik serta eropsi pada seluruh jaringannya (gambar 3.2).



Gambar 3.1
Tulang rawan persendian normal



Gambar 3.2
Tulang rawan persendian nekrotik

Derajat kerusakan atau keparahan dinilai dari gambaran histopatologi jaringan dengan menggunakan skor. Skor dibuat bertingkat sesuai perubahan yang terjadi pada jaringan tersebut (Modifikasi dari Underwood, 2000, McGavin *et al.*, 2007).

Ada 3 kriteria skoring yaitu:

A. Kerusakan lapisan permukaan / Lapisan tangensial (Zona 1) :

Skoring 0 : Tidak terjadi pengikisan

Skoring 1 : Terjadi pengikisan $\leq 25\%$

Skoring 2 : Terjadi pengikisan $> 25\% - \leq 50\%$

Skoring 3 : Terjadi pengikisan $> 50\% - \leq 75\%$

Skoring 4 : Terjadi pengikisan $> 75\% - \leq 100\%$

B. Jumlah lapisan transisional (Zona 2):

Skoring 0 : Jumlah lapisan $> 8 - \geq 10$

Skoring 1 : Jumlah lapisan $> 6 - \leq 8$

Skoring 2 : Jumlah lapisan $> 4 - \leq 6$

Skoring 3 : Jumlah lapisan $> 2 - \leq 4$

Skoring 4 : Jumlah lapisan ≤ 2

C. Kerusakan lapisan radial (Zona 3):

Skoring 0 : Tidak terjadi pengikisan

Skoring 1 : Terjadi pengikisan $\leq 25\%$

Skoring 2 : Terjadi pengikisan $> 25\% - \leq 50\%$

Skoring 3 : Terjadi pengikisan $> 50\% - \leq 75\%$

Skoring 4 : Terjadi pengikisan $> 75\% - \leq 100\%$

Cara menghitung nilai masing-masing skor :

Pemeriksaan preparat histopatologi sendi tikus putih dilakukan dengan mengamati lima lapangan pandang yang berbeda. Setiap lapangan pandang ditentukan pemberian tanda positif (+) atau negatif (-) terhadap setiap perubahan gambaran histopatologi sendi metatarsal tikus putih.

Perubahan yang ada dicatat dengan kriteria skor kemudian dievaluasi. Untuk derajat kerusakan teringan diberi skor (nilai) satu. Untuk derajat kerusakan terberat dengan skor (nilai) empat. Jumlah skor yang didapat kemudian diurutkan dengan sistem rangking sebagai data hasil penelitian dengan asumsi bahwa semakin tinggi jumlah skor, semakin berat derajat kerusakan tulang rawan sendi (kartilago). Jika tidak terjadi perubahan diberi nilai nol.

3.7 Rancangan Penelitian

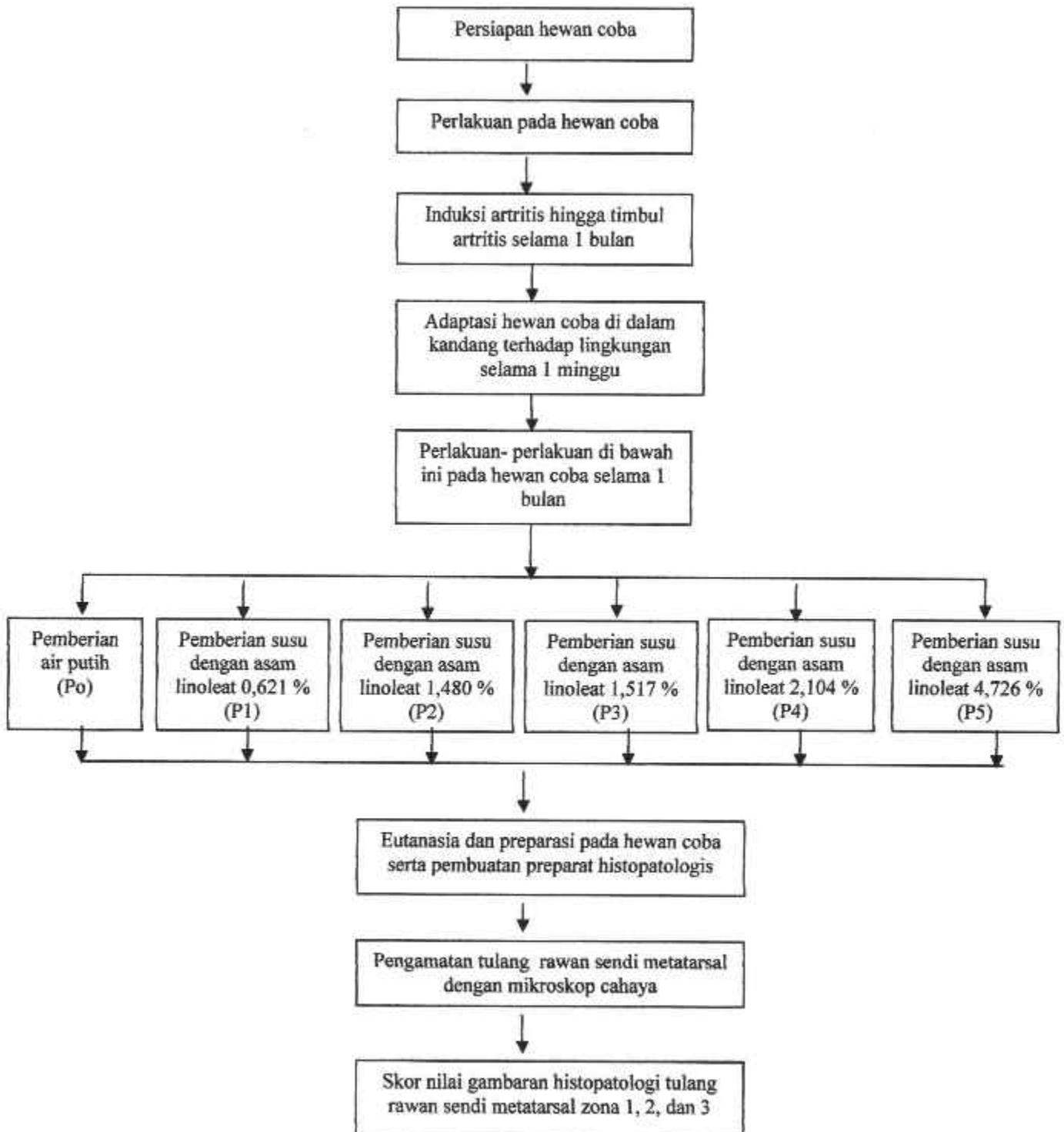
Penelitian ini menggunakan metode Percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) (Kusriningrum, 2008). Dua puluh empat ekor tikus yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dibagi secara acak ke dalam enam Perlakuan P₀, P₁, P₂, P₃, P₄, P₅ dan masing-masing terdiri dari empat ulangan. Adapun variabel yang diamati adalah tingkat perbaikan dari kerusakan jaringan tulang rawan sendi.

3.8 Analisis data

Data yang diperoleh berupa skor nilai tingkat keparahan yang disusun dalam bentuk tabel lalu dianalisis. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh kandungan asam linoleat susu terhadap perubahan histopatologi sendi metatarsal

tikus dilakukan analisis statistik dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov Test untuk mengetahui bahwa data berdistribusi normal atau data homogen sehingga data yang ada dapat diuji dengan *Oneway* ANOVA kemudian pengolahan data dilanjutkan dengan uji Duncan untuk menentukan notasi dari tiap perlakuan. Perangkat lunak yang digunakan untuk analisis data adalah *Windows Statistical Program for Social Science 13 (SPSS 13)*.

Skema penelitian sebagai berikut :



SKEMA PENELITIAN

BAB 4 HASIL PENELITIAN

4.1 Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Histopatologi

Berdasarkan hasil pengamatan preparat mikroskopik diperoleh data berupa nilai skor dari lima lapangan pandang, kemudian dirata-rata. Nilai skor rata-rata gambaran histopatologis tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada seluruh perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Rata-rata dan simpangan baku skor gambaran histopatologis tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) dari masing-masing perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata dan Standar Deviasi
P0	13,6675 ^a ± 3,54
P1	13,0000 ^a ± 2,23
P2	11,500 ^{ab} ± 1,75
P3	10,232 ^{ab} ± 3,77
P4	10,085 ^{ab} ± 2,86
P5	7,57500 ^b ± 3,90

Keterangan : Superskrip a dan b berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan bermakna perlakuan ($p < 0,05$).

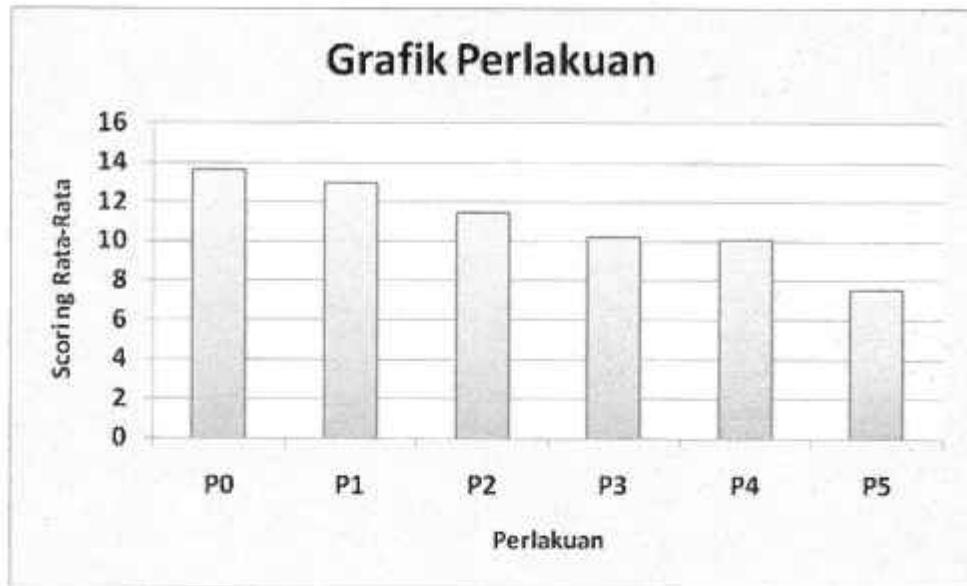
Berdasarkan nilai skor rata-rata yang diperoleh dilanjutkan dengan analisis data statistik menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov Test menunjukkan tiap perlakuan memberikan pengaruh pada tingkat signifikan ($p = 0,688 > \alpha = 0,05$), hal tersebut menunjukkan data dari tiap perlakuan diatas berdistribusi normal/ homogen sehingga

dapat dilanjutkan dengan uji *One way* Anova. Hasil dari uji tersebut kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan untuk menentukan notasi dari tiap perlakuan.

Hasil analisis data menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yaitu adanya kecenderungan kerusakan yang menurun. Kelompok P0 menunjukkan tingkat kerusakan tertinggi, yang diikuti oleh kelompok P1, dan tingkat kerusakan terus menurun pada kelompok P2, P3, P4, dan kelompok P5 menunjukan hasil perbaikan yang nyata / signifikan.

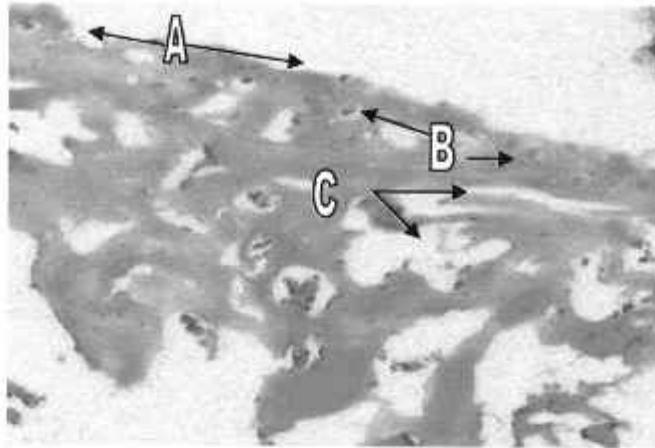
Kelompok P1, P2, P3, P4 tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok P0, dan kelompok P2, P3, P4 juga tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok P5, namun kelompok P5 menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan kontrol dan kelompok P1. Perbandingan perubahan histopatologis pada masing-masing perlakuan dapat dilihat pada gambar 4.1, gambar 4.2 (perlakuan P0), gambar 4.3 (perlakuan P1), gambar 4.4 (perlakuan P2), gambar 4.5 (perlakuan P3), gambar 4.6 (perlakuan P4), dan gambar 4.7 (perlakuan P5).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok P0, kelompok P1, kelompok P2, kelompok P3, kelompok P4, dan kelompok P5, dapat diketahui bahwa secara mikroskopis terdapat pengaruh pemberian susu perlakuan terhadap gambaran histopatologi tulang rawan sendi tikus *suspect* artritis.

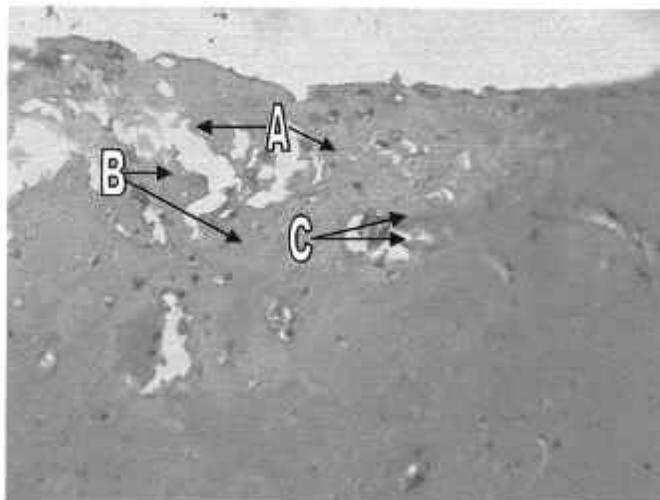


Gambar 4.1. Diagram batang hasil skor nilai pemeriksaan gambaran histopatologis tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada tiap perlakuan.

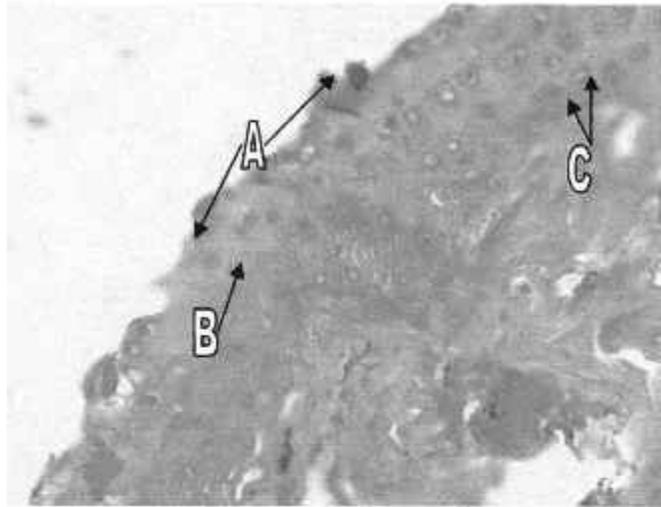
Pada diagram diatas, tingkat kerusakan diukur dengan menggunakan skoring rata-rata. Yang menunjukkan bahwa rata-rata skor nilai kerusakan tertinggi terdapat pada kelompok P0, dan terus menurun pada kelompok P2, P3, P4, hingga kelompok P5 yang menunjukkan tingkat kerusakan terendah dibandingkan perlakuan-perlakuan lainnya.



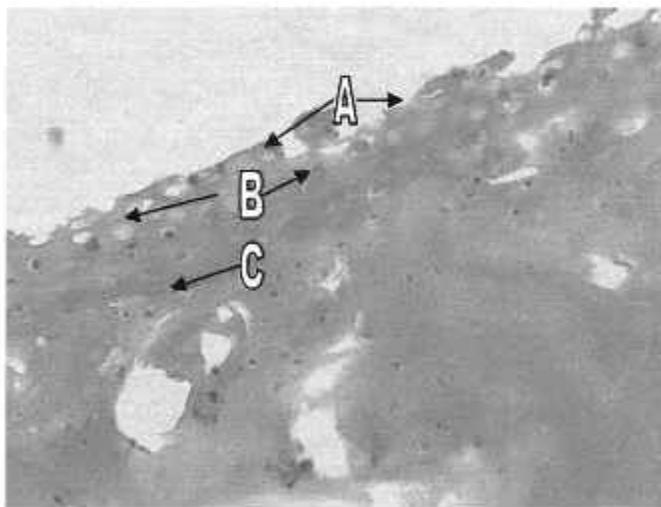
Gambar 4.2. Gambar Histopatologi Jaringan Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Kelompok Perlakuan Kontrol Tanpa Pemberian Susu (P0). Pada gambar diatas dengan perbesaran mikroskopik 400x menunjukkan (A) kerusakan yang ditandai dengan pengikisan pada seluruh lapisan permukaan / lapisan tangensial, (B) kerusakan pada seluruh lapisan transisional dan sel-sel kondrosit tidak dapat diidentifikasi, (C) kerusakan dan pengikisan meluas pada lapisan radial dan sel-sel kondrosit radier tidak dapat diidentifikasi.



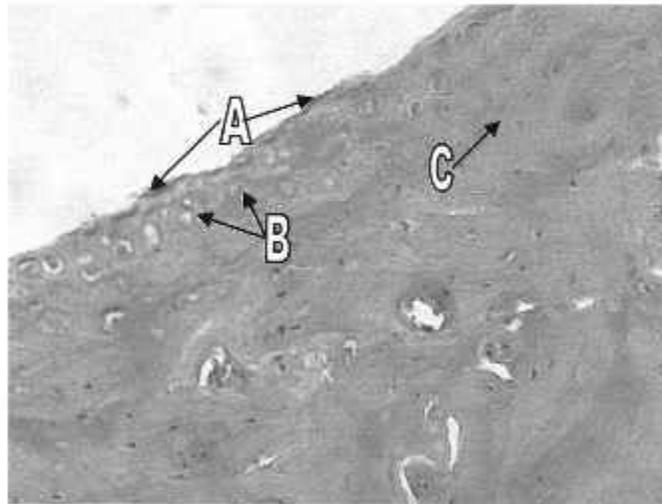
Gambar 4.3. Gambar Histopatologi Jaringan Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Kelompok Perlakuan Pemberian Susu F0 (P1). Pada gambar diatas dengan perbesaran mikroskopik 400x menunjukkan (A) kerusakan pada lapisan permukaan / lapisan tangensial, (B) kerusakan pada hampir semua lapisan transisional dan sel-sel kondrosit tidak dapat diidentifikasi, (C) kerusakan dan pengikisan meluas pada lapisan radial dan sel-sel kondrosit radier sebagian dapat diidentifikasi.



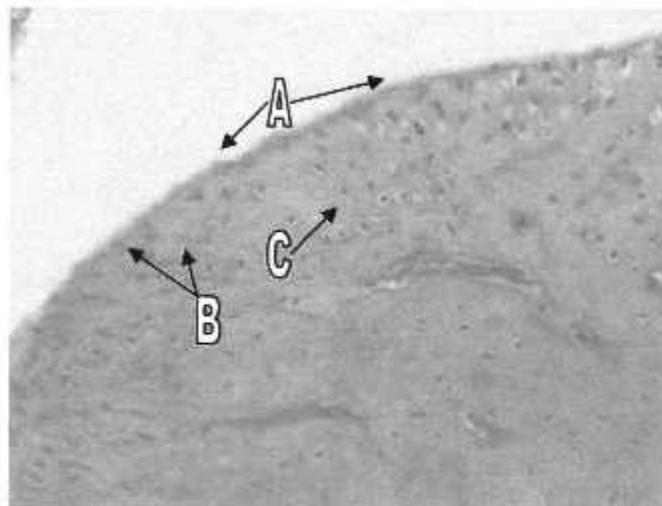
Gambar 4.4. Gambar Histopatologi Jaringan Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Kelompok Perlakuan Pemberian Susu F3 (P2) Pada gambar diatas dengan perbesaran mikroskopik 400x menunjukkan (A) kerusakan pada sebagian lapisan permukaan / lapisan tangensial, (B) kerusakan pada hampir semua lapisan transisional dan sel-sel kondrosit tidak dapat diidentifikasi, (C) terdapat proliferasi sebagian sel-sel kondrosit radier.



Gambar 4.5. Gambar Histopatologi Jaringan Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Kelompok Perlakuan Pemberian Susu F2 (P3) Pada gambar diatas dengan perbesaran mikroskopik 400x menunjukkan (A) kerusakan pada sebagian lapisan permukaan / lapisan tangensial, (B) kerusakan pada hampir semua lapisan transisional dan sel-sel kondrosit tidak dapat diidentifikasi, (C) terdapat proliferasi sebagian sel-sel kondrosit radier.



Gambar 4.6. Gambar Histopatologi Jaringan Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Kelompok Perlakuan Pemberian Susu F4 (P4). Pada gambar diatas dengan perbesaran 400x menunjukkan (A) pada lapisan permukaan / lapisan tangensial terdapat proliferasi sel-sel pipih, (B) pada lapisan transisional terdapat proliferasi sel-sel kondrosit, (C) pada lapisan radial terjadi proliferasi dan perbaikan.



Gambar 4.7. Gambar Histopatologi Jaringan Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Kelompok Perlakuan Pemberian Susu F1 (P5). Pada gambar diatas dengan perbesaran 400x menunjukkan (A) pada lapisan tangensial terdapat proliferasi sel-sel pipih, (B) pada lapisan transisional terdapat proliferasi sel-sel kondrosit, (C) pada lapisan radial terdapat proliferasi dan perbaikan.

BAB 5 PEMBAHASAN

Peradangan adalah respon tubuh (respon protektif) yang berupaya untuk mengembalikan tubuh pada keadaan sebelum injuri, dan merupakan reaksi perbaikan diri terhadap infeksi, atau akibat cedera yang ditandai dengan hancurnya penyebab (agen infeksiosa), serta memperbaiki bagian-bagian tubuh yang rusak akibat penyerangan agen tersebut. Untuk menambah respon inflamatoris dibutuhkan sel-sel tertentu dalam tubuh yang mempunyai peranan untuk memperbesar pengaruh sel fagosit. Sel-sel ini disebut sel mediator yang fungsinya melepaskan zat-zat kimia, yang mempunyai berbagai macam aktivitas biologik. Zat-zat ini adalah produk-produk metabolis dari asam linoleat yang disebut dengan sistem eukosanoid diantaranya adalah prostaglandin, tromboksan dan leukotrin, yang merupakan substansi yang bekerja pada seluruh respon peradangan (Marks *et al.*, 2000).

Eukosanoid berasal dari asam lemak *polyunsaturated* yang mengandung 20 atom karbon. Sumber utama eukosanoid ini adalah asam lemak esensial, salah satu diantaranya adalah asam linoleat yang berasal dari bahan-bahan makanan. Kemudian asam linoleat ini disintesis menjadi asam arakidonat yang merupakan bahan asal bagi eukosanoid yang dibentuk di dalam tubuh. Peranan asam linoleat sangat penting karena menghasilkan senyawa eukosanoid, senyawa dengan keaktifan fisiologis serta farmakologis (Mayes, 2003).

Perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu adanya perbaikan jaringan dan kecenderungan tingkat kerusakan menurun. Hal ini dapat

dalam yang meluas ke tulang. Proses degradasi juga akan mengurangi lapisan-lapisan penyusun kartilago yang timbul sebagai akibat dari beberapa tahap yaitu fibrilasi, pelunakan, perpecahan dan pengelupasan lapisan tulang rawan sendi (Merritt, 2008).

Faktor-faktor kemotaktik mewakili suatu kelas penting dari mediator inflamatoris. Pengaruhnya ditimbulkan oleh interaksi dengan reseptor permukaan pada leukosit. Kemampuan rangsang kemotaktik leukosit untuk menimbulkan respon multifungsional adalah sangat menarik, karena derivat oksigen toksik yang dihasilkan mempunyai kemampuan untuk merusak jaringan. Mediator pada respons inflamatoris dapat dipisahkan menjadi mediator yang melakukan fungsi permeabilitas vasa atau yang melakukan *fungsi kemotaktik* (leukotaktik). Faktor-faktor permeabilitas vasa melaksanakan pengaruhnya dengan membuka sela-sela endotel memungkinkan pengaliran elektrolit, air dan protein. Salah satu kemajuan imunologi yang penting pada saat ini adalah penemuan bahwa faktor permeabilitas vasa terkait dari asam linoleat yang muncul untuk menghasilkan peran yang sangat penting (Bellanti, 1993).

Pada proses peradangan, permeabilitas vasa dipengaruhi oleh prostaglandin yang berperanan dalam vasodilatasi dan leukotrin berperan dalam peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan aktivasi leukosit (kemotaksis) yang mempengaruhi proses fagositosis. Hal ini terjadi karena cukupnya pasokan asam linoleat dari susu yang kemudian melalui serangkaian proses menjadi senyawa eukosanoid yang mempengaruhi proses fagositosis (Marks *et al.*, 2000).

Kerusakan jaringan pada gambar 4.2 (P0), 4.3 (P1), 4.4 (P2), 4.5 (P3) karena proses fagositosis yang terdiri dari empat tahapan yaitu pertama pengenalan dan

pendekatan partikel oleh leukosit, kedua perlekatan partikel dan membran leukosit, ketiga terjadi fusi vakuola makrofag dan lisosom kemudian yang terakhir adalah terjadi pemusnahan atau degranulasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi respon peradangan dan kualitas penyembuhan adalah adanya suplai darah yang adekuat yang dipengaruhi oleh prostaglandin dan leukotrin, status gizi mencukupi misalnya asupan protein dan vitamin C, serta sel darah putih pada sirkulasi yang memadai (Arimbi, 2007).

Asam linoleat juga dapat memelihara fungsi normal membran sel, dan berperan dalam proses fosforilasi oksidatif yang menghasilkan leukotrien dan lipoksin (Montgomery *et al.*, 1993). Leukotrien mempengaruhi proses regulasi sel darah putih dan membantu dalam sistem imun. Leukotrien dan lipoksin memiliki beberapa fungsi diantaranya menyebabkan permeabilitas vaskular dan penarikan serta pengaktifan leukosit; senyawa leukotrien tampak pula sebagai regulator yang penting pada banyak penyakit yang melibatkan reaksi inflamasi (Marks *et al.*, 2000).

Asam linoleat juga merupakan prekursor pembentukan tromboksan. Tromboksan adalah hormon yang mirip dengan prostaglandin. Hormon ini dapat membantu mengurangi pendarahan pada saat luka, berperan dalam pembekuan darah, dan memiliki peran menjaga homeostasis. Pada gambar 4.3 (P1), 4.4 (P2), 4.5 (P3) masih terlihat (A) pengikisan pada lapisan permukaan, (B) kerusakan sebagian zona transisional dan sel-sel kondrosit tidak dapat diidentifikasi, (C) dan terjadi proliferasi sebagian pada zona radial namun pada gambar 4.3 (P1), 4.4 (P2), 4.5 (P3) tidak terlihat adanya perdarahan. Disini tromboksan bekerja dalam proses pembekuan

darah. Tromboksen bekerja sebagai enzim untuk mengubah fibrinogen menjadi benang fibrin yang dapat merangkai trombosit, sel darah dan plasma untuk bekuan. Benang-benang tersebut melekat pada permukaan yang rusak dan mencegah kebocoran darah sehingga terjadilah retraksi bekuan yang memungkinkan terjadinya hemostasis (Pohan, 2009).

Pada gambar 4.3 (P1), 4.4 (P2), 4.5 (P3), 4.6 (P4), pada kelompok perlakuan menunjukkan adanya proses berjalannya inflamasi atau peradangan yang juga menunjukkan perbaikan jaringan tulang rawan. Hal ini diakibatkan oleh berbagai enzim, sitokin dan faktor pertumbuhan berperan dalam metabolisme tulang rawan sendi. Kondrosit akan mensintesis proteoglikan dan kolagen (Kasjmir, 2009). Proteoglikan dan kolagen berperan sebagai mediator interaksi sel satu dengan yang lain yang secara spesifik membentuk matriks ekstraseluler. Proteoglikan adalah molekul yang mengandung karbohidrat yang disebut dengan glikosaminoglikan. Molekul ini terikat secara kovalen pada protein dan mengandung oligosakarida. Glikosaminoglikan merupakan bagian dari matrik ekstraseluler. Matriks ekstraseluler merupakan substansi dasar yang membantu sel-sel berdekatan dan menyediakan jalan untuk difusi nutrien dan oksigen sel (Nuringtyas, 2009). Sedangkan kolagen adalah suatu polipeptida perekat yang memiliki peran penting untuk tercapainya jaringan yang adekuat. Kolagen mempunyai fungsi sebagai peredam-kejut terhadap tekanan, struktur lubang penyaring (membran basal), dan berperanan aktif dalam berbagai proses regulasi yang terjadi pada masa pertumbuhan, perkembangan, penuaan, dan penyembuhan luka (Isbagio, 2000).

Akibat proses inflamasi terjadi gangguan atau perubahan matriks kartilago yang berhubungan dengan peningkatan konsentrasi air, degradasi makromolekul matriks, atau perubahan metabolisme kondrosit. Awalnya konsentrasi kolagen tipe II tidak berubah, tapi jaring-jaring kolagen dapat rusak dan konsentrasi *aggrecan* dan derajat agregasi proteoglikan menurun. Kolagen tipe II merupakan jenis kolagen yang terutama ditemukan pada rawan sendi, kolagen tipe ini kaya akan hidroksilisina, lebih terglisosilat dibandingkan dengan tipe I serta lebih sukar didegradasi oleh kolagenase (Isbagio, 2000). Respon selanjutnya diperankan oleh kondrosit terhadap gangguan atau perubahan matriks. Ketika kondrosit mendeteksi gangguan atau perubahan matriks, kondrosit berespon dengan meningkatkan sintesis dan degradasi matriks, serta berproliferasi. Respon ini dapat menggantikan jaringan yang rusak, mempertahankan jaringan, atau meningkatkan volume kartilago (Harul, 2008).

Pada gambar 4.6 (P4) dan 4.7 (P5) menunjukkan proliferasi sel-sel kondrosit dapat diidentifikasi mulai dari lapisan permukaan (tangensial), lapisan transisional, hingga lapisan radial. Secara histopatologik tulang rawan sendi pada gambar diatas terdiri dari struktur matriks yang selular dengan distribusi yang dapat diidentifikasi dan terbagi atas 4 zona, yaitu : a. lapisan tangensial atau *gliding zone*, dimana terdapat *elongated fibroblast-like cells* yang tersusun sejajar dengan permukaan rawan sendi; b. lapisan / zona transisional, tersusun atas sel yang lebih bulat dengan konfigurasi acak; c. lapisan / zona radial, sel tersusun dalam bentuk kolom yang iregular (Kasjmir, 2009).

Hormon pertumbuhan mempunyai peranan terhadap metabolisme kondrosit. *Growth factor* berperan pada proses perbaikan, faktor pertumbuhan ini akan memodulasi metabolisme kondrosit baik pada faktor katabolik maupun pada faktor anabolik. *Growth factor* meningkatkan sintesa proteoglikan, dan menurunkan degradasi proteoglikan akibat pengaruh makrofag (Isbagio, 2000).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa tulang rawan sendi ternyata dapat melakukan perbaikan sendiri dimana kondrosit akan mengalami replikasi dan memproduksi matriks baru. Proses perbaikan ini dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan suatu polipeptida yang mengontrol proliferasi sel dan membantu komunikasi antar sel. Faktor ini menginduksi kondrosit untuk mensintesis protein seperti kolagen serta proteoglikan. Faktor pertumbuhan yang berperan adalah insulin like growth factor, growth hormon, dan lainnya (Joewono.,dkk, 2006)

Sekali leukosit datang dari aliran darah, proses inflamatoris dicetuskan dan jaringan akan pulih jika leukosit dan mediator kimia cukup untuk menyusun pertahanan, namun bila leukosit yang datang tidak cukup untuk menyusun pertahanan maka proses peradangan dan waktu pemulihan jaringan akan diperpanjang (Bellanti, 1993).

Kelompok perlakuan pemberian susu F1 (P5) menunjukkan bahwa terdapat hasil proses pemulihan terbaik yang dibuktikan pada gambar 4.7 yaitu (A) proliferasi sel-sel pipih pada lapisan permukaan / lapisan tangensial, (B) proliferasi sel-sel kondrosit dapat diidentifikasi pada lapisan transisional, (C) terjadi proliferasi dan

perbaikan pada lapisan radial. Hal ini terjadi karena respon peradangan yang cepat dan memadai sehingga tercapai kualitas penyembuhan yang diharapkan.

Keadaan ini dipengaruhi oleh susu F1 tersebut karena memiliki kadar asam linoleat tertinggi dari perlakuan lainnya sehingga mampu mencukupi prekursor senyawa eukosanoid yang penting dalam proses peradangan dan penyembuhan. Pemberian susu ini sangat berperan aktif dan bermanfaat dalam proses metabolisme peradangan, diantaranya suplai darah yang adekuat yang dipengaruhi oleh prostaglandin dan leukotrin, status gizi, serta sel darah putih pada sirkulasi tercukupi sehingga proses kesembuhan dapat tercapai.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa potensi asam linoleat dalam susu sapi dapat memberikan pengaruh perbaikan terhadap sel-sel kondrosit pada lapisan tangensial, lapisan transisional, dan lapisan radial pada tulang rawan pada sendi metatarsal tikus putih *suspect* artritis.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, potensi susu mengandung asam linoleat berbeda dapat memperbaiki kondisi jaringan tulang rawan sendi metatarsal tikus putih *suspect* artritis oleh karenanya dapat disarankan :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan-kandungan sumber susu lainnya yang berpotensi sebagai terapi alami penyakit-penyakit radang.
2. Susu yang dihasilkan dari pakan komplit merupakan susu berkualitas tinggi oleh karena itu perlu adanya tindak lanjut oleh pihak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk menjadikan susu ini sebagai produk unggulan.

RINGKASAN

Patricia. Penelitian dengan judul “Potensi Asam Linoleat Dalam Susu Terhadap Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Suspect Arthritis” di bawah bimbingan Prof. Hj. Romziah Sidik PhD, drh sebagai dosen pembimbing pertama dan Ibu Indah Norma Triana, M.Si., Drh., sebagai dosen pembimbing kedua.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membuktikan potensi asam linoleat dalam susu sapi terhadap penyembuhan penyakit radang melalui pengamatan histopatologi tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) suspect arthritis.

Hewan coba sebanyak 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar berumur 3 bulan dengan berat rata-rata 200 gram, dan jenis kelamin jantan yang dibagi secara random kemudian di induksi dengan bahan penginduksi arthritis dengan cara injeksi atau penyuntikan. Penyuntikan pertama : induksi dilakukan dengan menyuntikkan 0,1 ml *Complete Freund's Adjuvant* secara intradermal pada pangkal ekor tikus. Dosis : 0,5 mg/ml dan penyuntikan kedua dilakukan setelah 14 hari dengan menyuntikkan 0,1 ml *Complete Freund's Adjuvant*, masing-masing 0,05 ml pada kedua kaki belakang (kaki kiri dan kaki kanan) secara intradermal (Aulia, 2007).

Perlakuan dilakukan setelah penyuntikan bahan induksi dalam waktu satu bulan. Perlakuan diberikan pada masing-masing hewan coba (tikus putih) dengan memberikan susu sapi yang mengandung asam linoleat secara peroral yang diberikan

2x sehari pada tiap pagi dan sore. Perlakuan diberikan sebanyak *ad libitum* selama 30 hari. Pemberian susu perlakuan tersebut adalah dengan memberikan susu ke setiap hewan coba sesuai perlakuannya yaitu perlakuan P0 (tikus *suspect* artritis pemberian air), P1 (tikus *suspect* artritis pemberian susu sapi F0), P2 (tikus *suspect* artritis pemberian susu sapi F3), P3 (Tikus *suspect* artritis pemberian susu sapi F2), P4 (tikus *suspect* artritis pemberian susu sapi F4), P5 (tikus *suspect* artritis pemberian susu sapi F1) yang diberi perlakuan menggunakan susu sapi mengandung asam linoleat dengan kandungan terendah hingga tertinggi.

Setelah perlakuan satu bulan dilakukan preparasi hewan coba kemudian diproses menjadi sediaan histopat menurut standar Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair. Dari masing-masing sampel, diwarnai dengan pewarnaan hemaktosilin eosin. Dan kemudian histopat-histopat tersebut diamati dibawah mikroskop cahaya 400x.

Data yang diperoleh berupa skor nilai tingkat keparahan yang disusun dalam bentuk tabel lalu dianalisis. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh kandungan asam linoleat dalam susu sapi terhadap perubahan histopatologi sendi metatarsal tikus dilakukan analisis statistik dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov Test untuk mengetahui bahwa data berdistribusi normal atau data homogen sehingga data yang ada dapat diuji dengan *Oneway* ANOVA. Kemudian data yang dihasilkan tersebut dilanjutkan dengan uji Duncan.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terbagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu P0 (kontrol tanpa susu),

kelompok P1 (susu F0 mengandung asam linoleat 0,621%), kelompok P2 (susu F3 mengandung asam linoleat 1,480%), kelompok P3 (susu F2 mengandung asam linoleat 1,517%), kelompok P4 (susu F4 mengandung asam linoleat 2,104%), dan kelompok P5 (susu F1 mengandung asam linoleat 4,726%), hasilnya menunjukkan adanya perbedaan bermakna (signifikan) antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yaitu adanya kecenderungan menurun sehingga kelompok P0 menunjukkan tingkat kerusakan tertinggi, yang diikuti oleh kelompok P1, dan tingkat kerusakan terus menurun pada kelompok P2, P3, P4, dan P5. Kelompok perlakuan pemberian susu F1 (P5) menunjukkan bahwa terdapat hasil proses pemulihan terbaik.

Dengan demikian pemberian asam linoleat dalam susu sapi tersebut diatas dapat mempengaruhi proses penyembuhan radang arthritis melalui pengamatan histopatologi tulang rawan sendi metatarsal tikus putih (*Rattus norvegicus*) *suspect* arthritis. Hal ini terjadi karena asam linoleat dalam susu ini sangat berperanan aktif dan bermanfaat dalam proses metabolisme peradangan, diantaranya suplai darah yang adekuat yang dipengaruhi oleh prostaglandin dan leukotrin, status gizi, serta sel darah putih pada sirkulasi tercukupi sehingga proses kesembuhan dapat tercapai.

Saran yang dapat diberikan adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan-kandungan susu lainnya yang berpotensi sebagai terapi alami penyakit-penyakit radang, dan susu yang dihasilkan dari pakan komplit merupakan susu berkualitas tinggi oleh karena itu perlu adanya tindak lanjut oleh pihak Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya untuk menjadikan susu ini sebagai produk unggulan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arimbi. 2007. Pengantar Kuliah Radang Akut, Kronis, Dan Penyembuhan. Bagian Patologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Aulia, H. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Infusum Pare terhadap Tikus Arthritis yang telah diinduksi oleh agen Complete Freund's Adjuvant (CFA). Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Malang.
- Baratawidjaja, K.G. 2002. Imunologi Dasar Edisi 7. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Indonesia. Jakarta. 13,29,33, dan 336.
- Bellanti, M.D. Joseph A. 1993. Imunologi III Cetakan I. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 215-232.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., Wooton, M., 1987. Ilmu Pangan. Diterjemahkan Purnomo hari, Adiono. UI-Press. Jakarta. 269-279.
- Damjanov, Ivan. 1998. Buku Teks dan Atlas Berwarna Histopatologi. Widya Medika. Jakarta.
- Darwin, Eryati. 2004. Kajian Molekul Adesi (ICAM-1, VCAM-1, Selektin-1) Padad Kejadian Arthritis Reumatoid Fase Inisiasi, Aktif, dan Kronik [Thesis]. Fakultas Farmasi Unair. Surabaya.
- Donagh, Mc. D *et al.* 1999. *Protein Susu*. [www. ivestocktrall.uiuc.edu / dairynet / Paper Display.cfm](http://www.ivestocktrall.uiuc.edu/dairy/dairy/dairy/PaperDisplay.cfm). [18 November 2007].
- Galuh, Adi. 2003. Kamus Unggas. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Gaman, P.M., Sherrington, K. B., 1992. Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi Dan Mikrobiologi. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Geneser, F. 1994. Buku teks Histologi. Terjemahan F.A. Gunawijaya, Elna K, Hanslavina Arkema. Binarupa Aksara. Jakarta. 152-155.
- Gonter, Neil J MD. 2008. Review Rheumatology Practical. Verimed Healthcare Columbia University. New York.
- Hadiwiyoto, S. 1983. Tehnik Uji Mutu Susu Dan Hasil Olahannya. Liberty, Yogyakarta. 17-37.

- Harul P, Bobby S.Ked. 2008. Referat Osteoarthritis. Penggalih Bahasa M Herlambang, S.Ked. [Http://sibermedik.wordpress.com/2008/11/28/kumpulan-presentasi-dan-refrat-osteoarthritis/](http://sibermedik.wordpress.com/2008/11/28/kumpulan-presentasi-dan-refrat-osteoarthritis/). [10 Desember 2008].
- Isbagio, Harry. 2000. Struktur Rawan Sendi dan Perubahannya pada Osteoarthritis. //http.www.google.Cermin Dunia Kedokteran-osteoarthritis.net.com. [28 April 2009].
- Jackson, LR and Fox, JG. 1995. Institutional Policies and Giudelines on Adjuvants and Antibody Production. *ILAR Journal*, Vol. 37(3): 141-152.
- Jansen, S dan Sangam, D.R.T. 2002. Asam Lemak *Trans* dalam makanan dan pengaruhnya terhadap kesehatan. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Joewono, Soeroso., David Felson, Kate Grossman. 2006. Osteoarthritis / OA Buku Interna jilid II 1205, Silvia hal 1380. //http.WordPress.com. [29 April 2009].
- Junqueira, L.C., J. Carneiora and R.O.Kelley. 1998. Histologi Dasar Edisi 8 Cetakan I. Alih bahasa oleh Jan Tambayong. Penerbit buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Kasjmir, Yoga I. 2009. Struktur dan Fungsi Sendi. Sub Bagian Reumatologi, Bagian Ilmu Penyakit Dalam FKUI / RSUPN Cipto Mangunkusumo. Jakarta.//http.www\struktur-dan-fungsi-sendi.html. [28 April 2009].
- Kusriningrum. 2008. Rancangan Acak Kelompok, Rancangan Bujur Sangkar Latin, Percobaan Faktorial. Fakultas Kedokteran Hewan Airlangga. Surabaya.
- Lammers, B.P.,A.J. Heindrichs and V.A. Ishler. 2003. Use of Total Mixed Rations (TMR) for Dairy Cows. *Dairy Cattle Feeding and Management*. Departement of Dairy and Animal Science. The Pensilvania State University.
- Leeson, C. Roland. 1996. Buku Teks Histologi Cetakan VI. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 156-157.
- Liu, Y., Lin, H., Zou, R. 2009. Supressions Of Complete Freund's Adjuvant Induce Adjuvant Arthritis By Cobratoxin. *Acta Pharmacologica Sinica* (2009) 30: 219-227., doi; 10.1038-aps.2008.20.
- Lorenzo, J. MD. 2009. Animal Care Comitee (ACC) Approve policy use of Complete Freund's adjuvant. Majority food of the Animal care comitee members.

- Made, Astawan Prof. 2005. Gizi dan Kesehatan. Department of Food Science and Technology, IPB. www.dnet.net.id/kesehatan/tipssehat/detail.php. [2 Juni 2008].
- Marks, Dawn B.PhD, Allan D. Marks MD, Collen M smith. PhD. 2000. Biokimia Kedokteran Dasar Cetakan I. Penerbit buku Kedokteran EGC. Jakarta. 533-544.
- Mc Gavin, M. Donald, James. F. Zachary. 2007. *Pathology Basis of Veterinary Disease. Fourth Edition* Vol 1. Mosby, Inc. St Louis, Missouri.
- Merritt, Ed. 2008. Definisi dan Patologi Osteoarthritis (OA).//<http://www.WordPress.com> [25 December 2008].
- Montgomery, R, L, Dryer., T. W. Conway dan A. A Spector. 1993. Biokimiawi Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus. UGM Press. Yogyakarta. 180-265.
- Mayes, P. A., Murray, R. K., Granner, D K., Rodwell, V, W., 1999. Biokimia Harper edisi 23. Jakarta; RGC. Hal 779-800
- Mayes, P. A., Murray, R. K., Granner, D K., Rodwell, V, W., 2003. Biokimia Harper edisi 24. Jakarta; RGC. Hal 242-247, 780-785.
- Murwani, Retno. 2002. <http://HarianKompas//AsamLinoleatTerkonjugasiPenurunanTimbunanLemak.net.com>. [Kamis, 04 September 2003.htm]
- Nagakura, y., m. Okada, a. Kohara, t. Kiso, t. Toya, a. Iwai, f. Wanibuchi, and t. Yamaguchi. 2003. Allodynia and hyperalgesia in adjuvant-induced arthritis rats: time course of progression and efficacy of analgesics. *Journal of pet* 306: 490-497.
- Nuringtyas.T.R.Glikokonjugat.<http://elisa.ugm.ac.id/files/chimera73/hEAc8NaI/Glycan,Proteoglycan,%20Glycoprotein,%20glycolipid.pdf>. [16 Juni 2009].
- Robbins, S.L, Cotran, R.S, dan V. Kumar.2007. Buku Ajar Patologi Robbins, Edisi 7, Vol 1. Alih bahasa ; dr. Awal Prasetyo, dr. Brahm U. Pendit &dr. Toni Priliono. Penerbit Buku kedokteran EGC. Jakarta. Hal : 35-63.
- Pohan, L.M. 2009. Pengaruh Pemberian Infusa Buah Pare (*Momordica charantia L*) Terhadap Kesembuhan Luka Insisi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.

- Romziah, S. 2007. Induksi Agen Conjugated Linoleic Acid Dalam Proses Pembuatan Pakan Komplek Berkhasiat Anti-carcinogenik. Tahun ke 1. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Airlangga. Surabaya.
- Romziah, S. 2008. Induksi Agen Conjugated Linoleic Acid Dalam Proses Pembuatan Pakan Komplek Berkhasiat Anti-carcinogenik. Tahun ke 2. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Airlangga. Surabaya.
- Sigma Chemical Corp. 2002. <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma/datasheet2/f5506dat.pdf> [7 Juni 2009].
- Siregar, S. 1994. Ransum Ternak Ruminansia. Penebar Swadaya. Jakarta
- Smith, J. R. 1995. Produksi Serum Superimun Dalam Teknologi Elisa Dalam Diagnosis Dan Penelitian (Burgess,G.W.Ed). Gadjra Mada University Press. Yogyakarta. 20,22-24 dan 28-30.
- Sodeman. 1995. Patologi Fisiologi Jilid 2 Cetakan I. Alih Bahasa: dr. Andry hartono, dr. Joko Suyono, dr. Surya Sugani. Penerbit Hipokrates. Jakarta. 131-138.
- Sri, Mulyaningsih., Endang. D. 2006. Efek Antiartritis Pisang Ambon (*Musa paradisiaca sapientun L.*) Dan Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) Terhadap *adjuvant-Induce* Arthritis Pada Tikus. Fakultas Farmasi, Universitas Islam Indonesia (UII). Yogyakarta 5584. Biodiversitas. Vol 7, no 3, Hal: 273-277.
- Tizard, I. 1988. Pengantar Immunologi Veteriner Edisi 2. Airlangga University Press. Surabaya. 10-12 dan 46.
- Underwood, J.C.E. 2000. Patologi Umum dan Sistemik. Vol 2 Cetakan I Alih bahasa oleh Sarjadi. Penerbit buku Kedokteran EGC. Jakarta. 828-837.
- Venom. 2003. Essential Fatty Acids. [Http// abcbodybuilding. com/magazine03/efa.com](http://abcbodybuilding.com/magazine03/efa.com). [3 November 2008.htm].
- Widhianto, T., Olgananda, M., dan Annisa, E.S.S. 2009. Upaya Peningkatan Kualitas Susu Sapi Segar Dengan Monit Parameter Fisik, Kimia, Dan Biologi. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Wijayakusuma, Prof. Hembing. 2008. [http: wordpress.com/tag/hembing](http://wordpress.com/tag/hembing) // Mencegah & Mengatasi Radang Sendi (Arthritis) dengan Tumbuhan Obat. net.com. [14 Maret 2008.htm].

Lampiran 1

Analisis Proksimat Dan Komposisi Kimiawi (%) Berbagai Jenis Pakan Komplit
Dan Bahan Baku Pakan (Romziah, 2007)

Kode Sampel	Hasil Analisis (%)										
	Bahan kering 60°	Bahan kering 105°	abu	Protein kasar	Lemak kasar	Serat Kasar	BETN	Ca	NDF	ADF	DE (Kcal/kg)
F1	41.0026	91.332	11.3394	13.9968	17.8431	13.9848	30.3314	1.9775	63.3027	21.8659	3623.92
F2	55.1257	92.1154	9.8634	17.8329	16.3266	13.6485	38.2801	1.7648	54.7135	21.9378	3645.34
F3	50.4769	93.7741	10.9631	16.5312	20.6316	14.8874	30.7608	1.7371	33.2727	23.6818	3833.88
F4	87.2229	95.6787	9.3592	15.9243	13.4085	12.9613	44.0254	2.8155	55.7586	15.8182	3690.4
Ampas tahu wonocolo	12.0982	97.2695	3.8274	19.2793	5.7331	26.9869	41.4426	0.93245	60.11355	30.5101	3432.05
Kulit ubi kayu	34.2169	25.8086	5.3585	6.4591	5.3923	10.6564	67.9423	0.5917	63.4686	17.3243	3529.54
Rumput	44.8541	95.5574	12.3439	11.7914	11.2918	38.1514	21.9789	0.5548	64.5907	46.2818	3097.77
Dedak Padi		91.3608	11.8161	8.9452	7.7165	26.2145	36.6685	0.4749	63.4508	40.1674	2981.63

Lampiran 2. Pembuatan Sediaan Histologis Sendi

Pembuatan sediaan histologis dilakukan tahap-tahap sebagai berikut :

1. Fiksasi Dan Pencucian

- Tujuan : Mematikan kuman dan bakteri
Menjadikan jaringan lebih keras sehingga menjadi mudah dipotong
- Reagen : Larutan Formalin 10%
- Cara kerja : Setelah jaringan diambil, dimasukkan dalam larutan Formalin 10%, sekurang-kurangnya 24 jam dan kemudian dilakukan pencucian dengan air kran yang mengalir selama setengah jam

2. Dehidrasi dan Clearing

- Tujuan : Untuk menarik air dari jaringan, membersihkan, dan menjernihkan
- Reagen : Alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alcohol absolute I, II, III, Xylol I dan Xilol II.
- Cara Kerja : Jaringan yang telah dicuci dengan air kran selama setengah jam di masukan ke dalam reagen dengan urutan Alkohol 70%, 80%, 95%, 96%, alcohol absolute I, II, III, Xylol dan Xylol II masing-masing setengah jam.

3. Infiltrasi (embedding)

- Tujuan : Untuk memfiltrasi jaringan dengan parafin akan

menembus ruangan antar sel dan dalam sel sehingga lebih tahan terhadap pemotongan.

Reagen : Parafin I dan Parafin II

Cara kerja : Jaringan dimasukkan dalam parafin I yang mencair, kemudian dimasukkan dalam parafin II dan oven selama setengah jam pada suhu 60 derajat Celcius.

4. Pembuatan Blok Parafin

Tujuan : Supaya jaringan mudah dipotong

Reagen : Parafin cair

Cara kerja : Beberapa cetakan besi yang sebelumnya diolesi gliserin dengan maksud untuk mencegah melekatnya parafin pada cetakan, kemudian organ di masukan dengan pingset ke dalam cetakan dan menunggu sampai parafin membeku.

5. Pengirisan Dengan Mikrotom

Tujuan : Untuk memotong jaringan setipis mungkin agar dapat dilihat di bawah mikroskop

Alat : Mikrotom

Cara kerja : Organ yang telah dibloking, diletakan pada holder, kemudian dipotong dengan mikrotom setebal 5-7 mikron diambil dan dicelupkan dalam air hangat dengan suhu 20° C sampai 30° C agar jaringan mudah mengembang dengan baik, selanjutnya pada gelas objek yang sebelumnya telah diolesi egg albumin, kemudian dikeringkan diatas hot plate.

6. Pewarnaan

Tujuan :Memudahkan melihat perubahan jaringan. Digunakan pewarnaan Hemaktosilin Eosin (HE). Dengan HE dapat dengan jelas bentuk masing-masing selnya, sitoplasma berwarna merah sedangkan intinya biru.

Cara kerja : Pewarnaan HE dilakukan dengan metode Harris, dengan cara Sebagai berikut :

- Jaringan yang telah kering dimasukan ke dalam Xylol I, selama 3 menit tempat khusus dan selama 1 menit pada Xylol II, kemudian alcohol absolute I dan II, alcohol 96%, 80%, 70%, air kran masing-masing 1 menit. Selanjutnya organ dimasukan ke dalam zat warna Hematoxylin selama 5-10 menit, air kran 2-5 menit, asam alcohol 3-10 celupan, air kran 4-7 celupan, amoniak enam celupan, air kran 10 menit, aquades secukupnya, zat warna eosin selama 15 detik, kemudian dimasukan lagi ke dalam alcohol 70%, 80%, masing-masing selama 30 detik, alcohol 96%, alcohol absolute I dan II selama 1 menit, yang terakhir dimasukan Xylol I dan II masing-masing selama 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan dari sisa-sisa pewarnaan.

7. Mounting

Cara kerja : Penutupan gelas objek dengan gelas penutup yang sebelumnya telah ditetesi Canada Balsem.

Data Skor Perubahan Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Suspect Arthritis Kelompok Kontrol (P0)

Perlakuan	Ulangan	Lap. Pandang	Perubahan Histopatologi			Jumlah	Rata-rata
			a	b	c		
P0	1	1	4	2	0	28	9,33
		2	3	2	3		
		3	3	1	0		
		4	4	3	2		
		5	0	1	0		
	2	1	4	4	4	53	17,67
		2	4	4	3		
		3	4	4	3		
		4	2	3	3		
		5	4	4	3		
	3	1	4	4	0	38	12,67
		2	3	1	0		
		3	4	4	4		
		4	4	4	0		
		5	4	3	0		
	4	1	4	4	4	45	15
		2	3	3	2		
		3	4	3	3		
		4	4	4	4		
		5	2	1	0		

Data Skor Perubahan Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Suspect Arthritis Kelompok Perlakuan 1 (Susu F0)

Perlakuan	Ulangan	Lap. Pandang	Perubahan Histopatologi			Jumlah	Rata-rata
			a	b	c		
P1	1	1	0	2	0	39	13
		2	4	4	3		
		3	4	3	1		
		4	3	4	3		
		5	4	4	0		
	2	1	4	4	4	47	15,67
		2	3	3	3		
		3	4	4	3		
		4	4	3	2		
		5	3	2	1		
	3	1	1	3	3	40	13,33
		2	4	4	4		
		3	4	4	4		
		4	3	4	0		
		5	1	1	0		
	4	1	1	2	2	30	10
		2	1	1	0		
		3	4	3	2		
		4	4	4	4		
		5	1	1	0		

Data Skor Perubahan Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Suspect Arthritis Kelompok Perlakuan 2 (Susu F3)

Perlakuan	Ulangan	Lap. Pandang	Perubahan Histopatologi			Jumlah	Rata-rata
			a	b	c		
P2	1	1	4	3	4	37	12,33
		2	4	2	3		
		3	4	3	0		
		4	1	1	1		
		5	4	3	0		
	2	1	3	2	0	35	11,67
		2	4	3	0		
		3	4	3	1		
		4	3	3	2		
		5	4	3	0		
	3	1	0	0	3	27	9
		2	0	4	0		
		3	2	4	0		
		4	0	3	2		
		5	4	4	4		
	4	1	4	4	4	39	13
		2	4	4	4		
		3	0	4	0		
		4	4	4	0		
		5	4	2	1		

Data Skor Perubahan Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Suspect Arthritis Kelompok Perlakuan 3 (Susu F2)

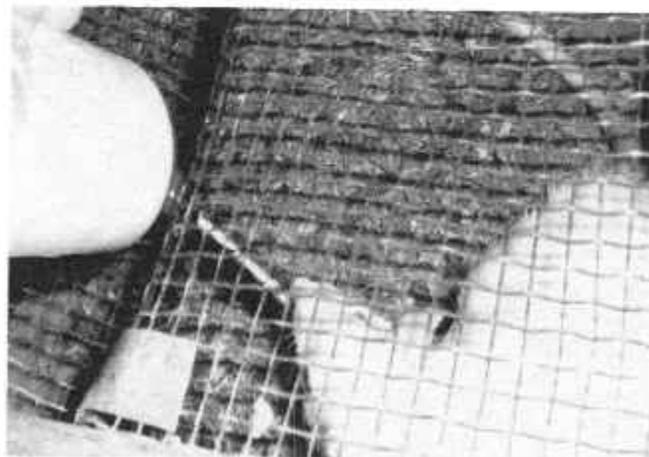
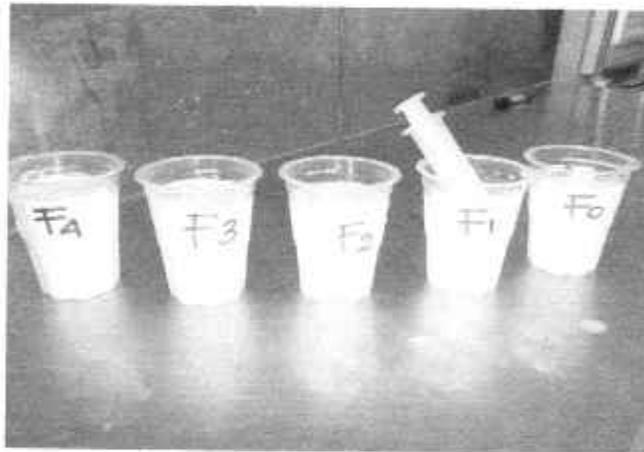
Perlakuan	Ulangan	Lap. Pandang	Perubahan Histopatologi			Jumlah	Rata-rata
			a	b	c		
P3	1	1	4	2	1	43	14,33
		2	4	2	2		
		3	3	3	1		
		4	4	3	2		
		5	4	4	4		
	2	1	0	1	0	18	6
		2	0	3	2		
		3	1	2	1		
		4	1	3	3		
		5	0	1	0		
	3	1	4	3	1	25	8,3
		2	2	1	1		
		3	4	1	0		
		4	2	3	0		
		5	2	1	0		
	4	1	4	3	3	37	12,3
		2	4	2	1		
		3	2	1	0		
		4	4	2	1		
		5	4	4	2		

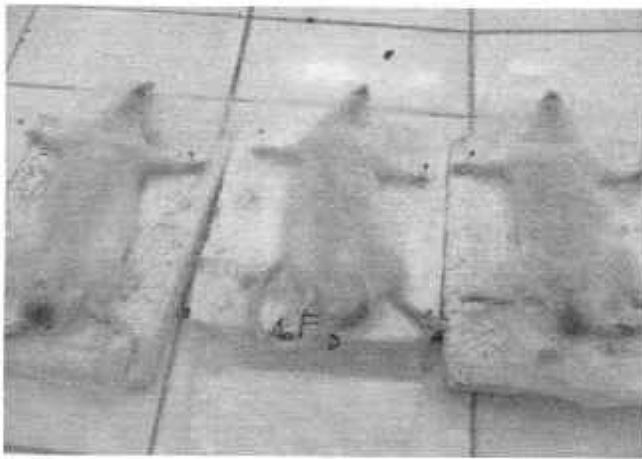
Data Skor Perubahan Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Suspect Arthritis Kelompok Perlakuan 4 (Susu F4)

Perlakuan	Ulangan	Lap. Pandang	Perubahan Histopatologi			Jumlah	Rata-rata
			a	b	c		
P4	1	1	4	3	1	38	12,67
		2	1	3	1		
		3	4	4	2		
		4	3	3	1		
		5	3	4	1		
	2	1	4	1	1	18	6
		2	1	1	1		
		3	0	1	0		
		4	2	2	1		
		5	1	2	0		
	3	1	2	4	0	32	10,67
		2	2	2	0		
		3	1	1	0		
		4	4	4	2		
		5	3	4	3		
	4	1	4	3	2	33	11
		2	0	2	0		
		3	4	1	1		
		4	3	2	0		
		5	4	3	4		

Data Skor Perubahan Gambaran Histopatologi Tulang Rawan Sendi Metatarsal Tikus Putih Suspect Arthritis Kompek Peakuan 5 (Susu F1)

Perlakuan	Ulangan	Lap. Pandang	Perubahan Histopatologi			Jumlah	Rata-rata
			a	b	c		
P5	1	1	1	2	0	20	6,67
		2	1	1	0		
		3	4	4	3		
		4	0	1	0		
		5	1	2	0		
	2	1	2	1	0	15	5
		2	0	1	0		
		3	0	1	0		
		4	4	3	2		
		5	0	1	0		
	3	1	4	1	2	40	13,33
		2	4	2	3		
		3	4	3	1		
		4	3	3	4		
		5	4	1	1		
	4	1	3	2	1	16	5,3
		2	0	1	1		
		3	1	1	0		
		4	1	2	1		
		5	1	1	0		





Lampiran 4. Analisis Data dengan menggunakan SPSS for Windows

Case Summaries^a

Perakuan			Skor
P0	1	1	9.33
		2	17.67
		3	12.67
		4	15.00
	Total	N	4
		Mean	13.8675
		Std. Error of Mean	1.77023
		Sum	54.67
		Std. Deviation	3.54046
P1	1	1	13.00
		2	15.67
		3	13.33
		4	10.00
	Total	N	4
		Mean	13.0000
		Std. Error of Mean	1.16325
		Sum	52.00
		Std. Deviation	2.32850
P2	1	1	12.33
		2	11.67
		3	9.00
		4	13.00
	Total	N	4
		Mean	11.5000
		Std. Error of Mean	.87644
		Sum	46.00
		Std. Deviation	1.75288
P3	1	1	14.33
		2	6.00
		3	8.30
		4	12.30
	Total	N	4
		Mean	10.2325
		Std. Error of Mean	1.88883
		Sum	40.93
		Std. Deviation	3.77327
P4	1	1	12.67
		2	6.00
		3	10.67
		4	11.00
	Total	N	4
		Mean	10.0850
		Std. Error of Mean	1.43029
		Sum	40.34
		Std. Deviation	2.86058
P5	1	1	6.67
		2	5.00
		3	13.33
		4	5.30
	Total	N	4
		Mean	7.5750
		Std. Error of Mean	1.95246
		Sum	30.30
		Std. Deviation	3.90482
Total	N	24	
	Mean	11.0100	
	Std. Error of Mean	.70474	
	Sum	264.24	
	Std. Deviation	3.45250	

a. Limited to first 100 cases.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Skor
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	11.0100
	Std. Deviation	3.45250
Most Extreme Differences	Absolute	.146
	Positive	.104
	Negative	-.146
Kolmogorov-Smirnov Z		.714
Asymp. Sig. (2-tailed)		.688

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Rata-rata Skor

Periakuan	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error of Mean	Minimum	Maximum
P0	13.6675	4	3.54046	1.77023	9.33	17.67
P1	13.0000	4	2.32650	1.16325	10.00	15.67
P2	11.5000	4	1.75288	.87644	9.00	13.00
P3	10.2325	4	3.77327	1.88663	6.00	14.33
P4	10.0850	4	2.86059	1.43029	6.00	12.67
P5	7.5750	4	3.90492	1.95246	5.00	13.33
Total	11.0100	24	3.45250	.70474	5.00	17.67

ANOVA

Rata-rata Skor

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	98.087	5	19.617	2.006	.127
Within Groups	176.067	18	9.781		
Total	274.154	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Skor

Duncan^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
P5	4	7.5750	
P4	4	10.0850	10.0850
P3	4	10.2325	10.2325
P2	4	11.5000	11.5000
P1	4		13.0000
P0	4		13.6675
Sig.		.119	.161

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

