

SKRIPSI

**UJI SITOTOKSISITAS MINYAK ATSIRI KULIT
BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomun burmannii*)
TERHADAP SEL PUNCA MESENKIMAL
LIMBUS MATA KELINCI DENGAN
METODE MTT ASSAY**



Oleh:

AJI PANGESTU SUWARDI
NIM. 061511133070

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**UJI SITOTOKSISITAS MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU
MANIS (*Cinnamomun burmannii*) TERHADAP SEL PUNCA
MESENKIMAL LIMBUS MATA KELINCI
DENGAN METODE MTT ASSAY**

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

pada

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh:

AJI PANGESTU SUWARDI

NIM. 061511133070

**Menyetujui
Komisi Pembimbing,**



(Dr. Rimayanti, drh., M.Kes)
Pembimbing Serta



(Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh.,DTAPH)
Pembimbing Utama

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**UJI SITOTOKSISITAS MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU
MANIS (*Cinnamomun burmannii*) TERHADAP SEL PUNCA
MESENKIMAL LIMBUS MATA KELINCI DENGAN
METODE MTT ASSAY**

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

Surabaya, 18 April 2022



Aji Pangestu Suwardi
NIM. 061511133070

Telah dinilai pada Seminar Hasil

Tanggal: 29 Maret 2022

KOMISI PENILAI SEMINAR HASIL PENELITIAN

Ketua	: Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
Sekretaris	: Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D.
Anggota	: Dr. Lilik Maslachah, drh., M.Kes.
Pembimbing Utama	: Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.
Pembimbing Serta	: Dr. Rimayanti, drh., M.Kes.

Telah dinilai pada

Tanggal: 18 April 2022

KOMISI PENILAI SEMINAR SKRIPSI

Ketua : Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
Sekretaris : Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D.
Anggota : Dr. Lilik Maslachah, drh., M.Kes.
Pembimbing Utama : Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.
Pembimbing Serta : Dr. Rimayanti, drh., M.Kes.

Surabaya, 18 April 2022
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP.
NIP. 196201161992032001

RINGKASAN

Aji Pangestu Suwardi. Penelitian dengan judul “Uji Sitotoksitas Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomun burmannii*) Terhadap Sel Punca Mesenkimal Limbus Mata Kelinci dengan Metode MTT Assay” dibawah bimbingan Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH. sebagai pembimbing utama dan Dr. Rimayanti, drh., M.Kes. sebagai pembimbing serta.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat sitotoksitas minyak atsiri kulit batang kayu manis terhadap sel punca mesenkimal limbus mata kelinci. Penelitian ini menggunakan *Microculture Tetrazolium* (MTT) assay sebagai metode deteksi tingkat kehidupan sel sebelum dan setelah diberikan perlakuan dengan minyak atsiri kulit batang kayu manis. Enzim dehidrogenase dari mitokondria sel punca mesenkimal limbus mata kelinci yang masih hidup akan mereduksi garam MTT yang berwarna kuning menjadi garam formazan berwarna biru-keunguan. Selanjutnya akan dikuantifikasi dengan spektrofotometer yang disebut *ELISA reader* dengan panjang gelombang 595nm, hingga didapat hasil berupa Densitas Optis (OD) yang nantinya akan digunakan untuk menghitung presentase kehidupan sel pada tiap perlakuan.

Sel punca mesenkimal limbus mata kelinci diperoleh dari koleksi sel milik Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga yang dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan (kontrol media, kontrol sel, konsentrasi minyak atsiri kulit batang kayu manis 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,0312%) dengan masing-masing 6 kali pengulangan.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 hingga Maret 2019. Prosedur penelitian pembuatan minyak atsiri kulit batang kayu manis adalah dimulai dengan melakukan proses destilasi uap air kulit batang kayu manis yang akan diuji, sehingga mendapatkan minyak atsiri dari kulit batang kayu manis. Sel yang telah siap diberikan perlakuan dibagi ke tiap 36 well yang nantinya akan terbagi menjadi berapa kelompok. Kelompok kontrol media hanya berisi media eagle, kelompok kontrol sel berisi sel punca mesenkimal limbus mata kelinci dan media eagle, dan kelompok perlakuan berisi sel punca mesenkimal limbus yang diberi minyak atsiri kulit batang kayu manis dengan konsentrasi 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0125%, 0,0312% yang kemudian diinkubasi selama 24 jam di inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C.

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *Posttest-Only Control Group Design*. Hasil *Optical Density* (OD) yang didapatkan diolah menggunakan *One Way ANOVA* dan dilanjutkan *Duncan's Multiple Range Test* dengan SPSS 24 *for windows*. Hasil penelitian yang didapat menunjukkan perbedaan jumlah persentase kehidupan sel. Pemberian minyak atsiri kulit batang kayu manis terhadap sel punca mesenkimal limbus mata kelinci pada konsentrasi 0,0312% menunjukkan jumlah persentase sel punca mesenkimal yang hidup sebesar 26,616%, pada konsentrasi 0,0625% menunjukkan jumlah persentase sel punca mesenkimal yang hidup sebesar 18,367%, pada konsentrasi 0,125% menunjukkan jumlah persentase sel punca mesenkimal yang hidup sebesar 15,239%, pada konsentrasi 0,25% menunjukkan jumlah persentase sel punca mesenkimal yang

hidup sebesar 13,248%, pada konsentrasi 0,5 % menunjukkan jumlah persentase sel punca mesenkimal yang hidup sebesar 11,541%.

Pada konsentrasi terendah 0,0312% menghasilkan viabilitas sel tertinggi, sedangkan minyak atsiri kulit batang kayu manis dengan konsentrasi tertinggi 0,5% menghasilkan viabilitas sel terendah. Hasil pengamatan yang didapat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit batang kayu manis, maka semakin rendah jumlah persentase kehidupan sel punca mesenkimal limbus mata kelinci, yang berarti semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit batang kayu manis, maka semakin tinggi pula efek sitotoksitasnya terhadap sel punca mesenkimal limbus mata kelinci.

**CYTOTOXICITY TEST OF ESSENTIAL OIL FROM CINNAMON BARK
(*Cinnamomum burmanii*) ON LIMBAL MESENCHYMAL STEM CELL
OF RABBITS USING MTT ASSAY METHOD**

AJI PANGESTU SUWARDI

ABSTRACT

The aim of this research was to determine the cytotoxicity properties of essential oil from *Cinnamomum burmanii* Cortex on limbal mesenchymal stem cell. This research is an experimental laboratory with The Post Test Only Group as a research design. Essential oil from *Cinnamomum burmanii* Cortex obtained from steam deistillation method and essential oil was made in a series dilution with a concentration of 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625% and 0,0312%. Furthermore, the cytotoxicity test on limbal mesenchymal stem cell using MTT assay. Microplate containing limbal mesenchymal stem cell that had been exposed to five concentrations was incubated in a 5% CO₂ incubator with 37°C for 24 hours. The result of MTT assay can be seen from absorbent solution formazan crystal through ELISA reader with the specific wavelength of 595nm which produces data in the form of Optical Density (OD). The essential oil from *Cinnamomum burmanii* Cortex with concentration of 0,0312% has the biggest viability with level of existence of limbal mesenchymal stem cell 26,616% and the others *Cinnamomum burmanii* Cortex concentration 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625% have less than 26,616% level of existence limbal mesenchymal stem cell. It can be concluded that the smaller the concentration of essential oils given to limbal mesenchymal stem cell, the higher percentage of cell life.

Keywords: *Cinnamomum burmanii* Cortex, MTT assay, essential oil, limbal mesenchymal stem cell, cytotoxicity.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan banyak limpahan rahmat serta kemudahan sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi dengan judul "Uji Sitotoksitas Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomun burmannii*) Terhadap Sel Punca Mesenkimal Limbus Mata Kelinci dengan Metode MTT *Assay*".

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan skripsi ini, antara lain:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis selama belajar di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Dr. Rimayanti, M.Kes., drh. selaku Wakil Dekan I; Dr. Iwan Sahrial Hamid, M.Si., drh. selaku Wakil Dekan II; Prof. Dr. Mustofa Helmi Effendi, DTAPH., drh. selaku Wakil Dekan III; Dr. Tjuk Imam Restiadi, drh., M.Si. selaku dosen wali penulis atas bimbingannya selama penulis sebagai mahasiswa di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH. selaku pembimbing utama dan Dr. Rimayanti, drh., M.Kes. selaku pembimbing serta atas segala saran, kritik, serta kesabaran dalam membimbing penulis. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh. selaku ketua komisi penguji; Prof. Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D. selaku sekretaris penguji; serta Dr. Lilik Maslachah, drh., M.Kes. selaku anggota penguji

atas kesediaan waktunya untuk menguji, menilai, dan memberikan kritik, serta saran yang sangat bermanfaat pada skripsi ini.

Ayah Eko Budi Santoso SP, MMA., Mama Rochma Ani Tjaturijanti, Adik Belinda Putri Dwiyanti, dan orang yang tak pernah henti memberikan bantuan doa, kasih sayang, bimbingan, dukungan, motivasi dan fasilitas pendukung pada penulis Redtieva Faradila W. P. S.Tr. Keb.

Teman seperjuangan penelitian, Agesti, Vida dan Niken yang telah membantu dan setia menemani pada saat penelitian. DAGRI BEM FKH UNAIR 2018 Alvioli Milanisa, M. Ikbar F., Safira Izzatul A., dan Sahabat karib Aris Setyo Wicaksono kelas B Delphinus angkatan 2015 atas kerjasama, bantuan, semangat dan doa dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan sehingga saran serta kritik sangat dibutuhkan demi kesempurnaan penyusunan makalah penelitian selanjutnya.

Surabaya, 18 April 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN IDENTITAS	iv
RINGKASAN	vi
ABSTRACT	ix
UCAPAN TERIMA KASIH	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xvii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Landasan Teori	5
1.4 Tujuan Penelitian	9
1.5 Manfaat Hasil Penelitian	9
1.6 Hipotesis	10
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 11
2.1 Tanaman Kayu Manis (<i>Cinnamomun burmannii</i>).....	11
2.1.1 Klasifikasi kayu manis (<i>Cinnamomun burmannii</i>)	11
2.1.2 Morfologi tanaman kayu manis.....	12
2.1.3 Kulit batang kayu manis.....	13
2.1.4 Syarat tumbuh tanaman kayu manis.....	15
2.1.5 Kandungan kimia tanaman kayu manis.....	16
2.1.6 Kegunaan dan manfaat kayu manis	18
2.2 Minyak Atsiri.....	21
2.3 Destilasi	22
2.4 Sitotoksitas	24
2.5 MTT Assay.....	26
2.6 Kultur Sel.....	28
2.7 Sel Limbus	30

BAB 3	METODE PENELITIAN	32
3.1	Rancangan Penelitian	32
3.2	Sampel	32
3.3	Variabel Penelitian	33
3.3.1	Variabel bebas	33
3.3.2	Variabel terikat	33
3.3.3	Variabel kendali	33
3.4	Definisi Operasional Variabel	33
3.4.1	Kulit batang kayu manis.....	33
3.4.2	Minyak atsiri kulit batang kayu manis	33
3.4.3	Uji sitotoksitas	34
3.4.4	Sel punca mesenkimal limbus kelinci	34
3.4.5	Sel hidup.....	34
3.4.6	Sel mati.....	34
3.4.7	MTT <i>assay</i>	34
3.5	Tempat dan Waktu Penelitian	35
3.6	Alat dan Bahan	35
3.6.1	Alat penelitian	35
3.6.2	Bahan penelitian	36
3.7	Prosedur Penelitian	36
3.7.1	Pembuatan minyak atsiri kulit batang kayu manis.....	36
3.7.2	Persiapan sel punca mesenkimal limbus mata kelinci.....	37
3.7.3	Tahap perlakuan	38
3.7.4	Tahap pengamatan dan pembacaan hasil	39
3.7.5	Perhitungan.....	40
3.8	Analisis Data	40
3.9	Diagram Alir Kerangka Penelitian	42
BAB 4	HASIL PENELITIAN	43
BAB 5	PEMBAHASAN	49
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN	54
DAFTAR PUSTAKA		55
LAMPIRAN		62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Komposisi kimia kulit batang kayu manis.....	15
2.2 Komponen penyusun minyak atsiri kayu manis dengan lokasi berbeda Pacitan (tipe A), Bogor (tipe B) dan Bali (tipe C).....	18
4.1 Rerata dan standar deviasi jumlah sel punca mesenkimal limbus hidup setelah diberi minyak atsiri kulit batang kayu manis (<i>cinnamomum burmannii cortex</i>) selama 24 jam.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman kayu manis	13
2.2 Kulit batang kayu manis	14
2.3 Struktur sinamaldehyd pada minyak atsiri kayu manis	17
2.4 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan	27
2.5 Daerah limbus mata	31
3.1 Kerangka penelitian	42
4.1 Hasil pengamatan sel setelah dilakukan pewarnaan dengan metode MTT <i>assay</i> menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x - 100x	44
4.2 Grafik persentase sel hidup berdasarkan konsentrasi sel punca	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uji statistik kelompok perlakuan	62
2. Dokumentasi alat dan bahan	66
3. Dokumentasi penelitian	67
4. Hasil <i>optical density</i>	68

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

α MEM	: <i>Minimum Essential Medium Eagle-Alpha Modification</i>
ANOVA	: <i>Analisis of Variance</i>
BSC	: <i>Biological Safety Cabinets</i>
cm	: <i>Centimeter</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
°C	: <i>Derajat Celcius</i>
DMSO	: <i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DPPH	: <i>Diphenylpicrylhydrazyl</i>
ELISA	: <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid</i>
FBS	: <i>Foetal Bovine Serum</i>
CO ₂	: <i>Karbon Dioksida</i>
Kg	: <i>Kilogram</i>
LC ₅₀	: <i>Lethal Concentration 50%</i>
MSC	: <i>Messenchymal Stem Cell</i>
μ L	: <i>Microliter</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium</i>
mg	: <i>Miligram</i>
ml	: <i>Mililiter</i>
nm	: <i>Nanometer</i>
NaCL	: <i>Natrium Klorida</i>
OD	: <i>Optical Density</i>
%	: <i>Persen</i>
PBS	: <i>Phospat Buffer Saline</i>
rpm	: <i>Revolutions Per Minute</i>
SPSS	: <i>Statistical Program and Service Solution</i>