

## **PROFIL KADAR MDA (MALONDIALDEHIDE) SEBAGAI PENANDA KERUSAKAN SELULER AKIBAT RADIKAL BEBAS PADA TIKUS YANG DIBERIKAN AIR BEROKSIGEN**

Siti Zaetun<sup>1</sup>, Lale Budi Kusuma Dewi<sup>2</sup>, Ida Bagus Rai Wiadnya<sup>3</sup>, Lalu Srigede<sup>4</sup>  
<sup>1-4</sup> Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Mataram, Indonesia

---

### **Article Info**

#### **Article history:**

Received Juli 20<sup>th</sup>, 2017  
Revised Aug 20<sup>th</sup>, 2017  
Accepted Sep 04<sup>th</sup>, 2017

---

#### **Keyword:**

Levels of malondialdehyde,  
Cellular Defect,  
Free Radicals,  
Rat,  
Oxygenated water

### **ABSTRACT**

*Free radicals can cause oxidative stress, due to imbalance between oxidants and antioxidants that could potentially cause cellular defect. Free radicals can increase the lipid peroxidation, which decompose into malondialdehyde (MDA) in blood. MDA is a marker of cellular defect caused by free radicals. This study aims to determine the profiles of MDA (malondialdehyde) as a marker of cell defect caused by free radicals in rats treated by oxygenated water. This is an experimental research with 3 groups of treatments. One group as control and two groups as samples that treats by oxygenated water for 5 days with certain volume. The data analyzed by measuring the MDA levels of group control and group samples. The data is tested by Kruskal Wallis Test with 95% of confidence level. The results showed that average of MDA levels in group that treated by pentagonal water, hexagonal water and control group are 5.09  $\mu\text{M} / \text{L}$ , 3.14  $\mu\text{M} / \text{L}$  and of 3.06  $\mu\text{M} / \text{L}$ . Analysis of the data showed there is no significant differences in the levels of MDA in the treatment groups. This conclude that there is no significant difference of MDA level in rat that treated by oxygenated water. It is means there is no effect on cellular defect.*

---

### **ABSTRAK**

Radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif, karena ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang berpotensi menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas dapat meningkatkan peroksidasi lipid, yang terurai menjadi malondialdehyde (MDA) dalam darah. MDA adalah penanda cacat seluler yang disebabkan oleh radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan profil MDA (malondialdehyde) sebagai penanda cacat sel yang disebabkan oleh radikal bebas pada tikus yang diolah dengan air yang mengandung oksigen. Ini adalah penelitian eksperimental dengan 3 kelompok perawatan. Satu kelompok sebagai kontrol dan dua kelompok sebagai sampel yang diolah dengan air beroksigen selama 5 hari dengan volume tertentu. Data dianalisis dengan mengukur tingkat kontrol kelompok MDA dan sampel kelompok. Data diuji dengan Uji Kruskal Wallis dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar MDA pada kelompok yang diolah dengan air pentagonal, air heksagonal dan kelompok kontrol adalah 5,09  $\mu\text{M} / \text{L}$ , 3,14  $\mu\text{M} / \text{L}$  dan 3,06  $\mu\text{M} / \text{L}$ . Analisis data menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam tingkat MDA pada kelompok perlakuan. Ini menyimpulkan bahwa tidak ada perbedaan tingkat MDA yang signifikan pada tikus yang diolah dengan air yang mengandung oksigen. Ini berarti tidak ada efek pada kerusakan seluler.

Kata kunci : Tingkat malondialdehyde; Cacat Seluler; Radikal Bebas; Tikus; Air beroksigen

Copyright © Jurnal Analis Medika Bio Sains

---

### **Pendahuluan**

Air merupakan unsur yang sangat penting bagi kehidupan. Sebanyak 75% tubuh manusia terdiri atas air (Purwanto, 2008). Mengonsumsi air yang cukup dapat meningkatkan fungsi hormon, memperbaiki kemampuan hati untuk memecah dan melepaskan lemak serta mengurangi rasa haus dan lapar. Sebaliknya

apabila kekurangan air dapat menyebabkan konstipasi, infeksi saluran kemih, terbentuknya batu ginjal, kelelahan dan masalah-masalah seputar kulit, rambut dan kuku. Selain air, unsur yang tidak kalah pentingnya dalam kehidupan adalah oksigen.

Oksigen diperlukan untuk proses pembakaran dalam tubuh, yaitu mengubah zat-zat gizi sumber energi seperti karbohidrat, protein, dan lemak menjadi energi yang diperlukan oleh tubuh untuk melakukan aktivitas sehari-hari. Oksigen juga merupakan unsur vital dalam regenerasi sel, tanpa oksigen akan terjadi proses degenerasi. Ketiadaan oksigen akan membawa kematian cepat pada makhluk hidup (Sobariah, 2007). Kebutuhan oksigen mendorong para ilmuwan dan industri untuk menciptakan alternatif suplai oksigen di dalam tubuh melalui air minum. (Refdi dkk, 2014).

Minuman air beroksigen merupakan air yang ditambahkan oksigen dengan konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar oksigen yang secara alami sudah terdapat di dalam air. Air minum biasa hanya mengandung 5-7 ppm oksigen, sedangkan pada minuman beroksigen, kadar oksigen dapat mencapai 80-130 ppm (Zakaria, 2014). Minuman beroksigen lain yang beredar di pasaran adalah air hexagonal. Pada air hexagonal, enam molekul H<sub>2</sub>O berkelompok membentuk formasi hexagonal atau segi enam yang terjadi karena air dipengaruhi oleh gelombang magnet dan radiasi elektrik tertentu. Air hexagonal cenderung membentuk kelompok kecil dan stabil (Mahani, 2016).

Berbagai khasiat air oksigen yang dipromosikan, umumnya klaim khasiat itu didasarkan pada pengalaman beberapa orang saja. Padahal menurut ilmu kedokteran, klaim manfaat sebuah produk seharusnya didasarkan pada data uji klinik. Bisa saja kesembuhan itu bersifat individual atau berasal dari efek sugesti, bukan efek sesungguhnya. Semakin banyaknya produk air kemasan botol dengan metode menggunakan klaim kelebihan air beroksigen dibandingkan dengan air mineral biasa nampaknya mengalami masalah klarifikasi bidang fisiologi. Pada 2010 lalu, beberapa ahli kesehatan menerbitkan hasil penelitiannya yang mengungkapkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara kandungan air yang berisi oksigen dibandingkan dengan air biasa, terutama terkait dampaknya bagi kebugaran peminumnya (Shadewa, 2008).

Oksigen yang masuk melalui saluran pencernaan dapat berdifusi dalam darah dan diharapkan dapat meningkatkan ketersediaan oksigen dalam tubuh serta memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan konsumen. Selain itu, efek negatif yang dikhawatirkan adalah pembentukan *Reactive Oxygen Species (ROS)*. Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah (leukosit) untuk menghasilkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga memungkinkan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membrane sel, organel sel, atau DNA, selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Refdi, dkk, 2014; Piantadosi, 2006).

Radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan yang kemudian berpotensi menimbulkan kerusakan sel dan dilaporkan berperan penting pada proses kerusakan hati (Elgaml dan Hashish, 2014). Radikal bebas dapat meningkatkan peroksidasi lipid yang kemudian akan mengalami dekomposisi menjadi *malondialdehyde (MDA)* dalam darah. *MDA* merupakan sebuah penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas. (Latifa, dkk, 2015).

Uji *MDA* dapat digunakan untuk mengukur peroksidasi yang terjadi pada membran lipid. Profil *MDA* dalam serum berfungsi sebagai sebuah penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas (Inoue, 2001). Semakin tinggi kadar radikal semakin tinggi kadar *MDA* yang terbentuk.

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang Profil Kadar *MDA (Malondialdehyde)* Sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang Diberikan Air Beroksigen. Penelitian ini bertujuan melihat Profil Kadar *MDA (Malondialdehyde)* Sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang Diberikan Air Beroksigen.

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian *eksperimental*, dengan rancangan acak lengkap untuk mengetahui pengaruh pemberian air oksigen terhadap perubahan kondisi tubuh tikus (*Rattus norvegicus*) yang berakibat terbentuknya radikal bebas dilihat dari kadar *MDA*. Besar sampel sebanyak 27 ekor tikus yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (UV Mini SHIMADZU) timbangan hewan (Ohaus), sonde oral, holder, spuit disposable, scalpel blade, tabung eppendorf, mikropipet, minispin, sentrifugator, sonifikator, dan alat-alat gelas. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air oksigen, tikus *Rattus norvegicus*, eter, aquades, larutan Trikloroasetat (TCA) 20%, larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 0,67%, 1,1,3,3-tetrametoksipropana (TMP) 99%.

Data yang diperoleh pada pengukuran kadar MDA dengan cara mengukur kadar MDA pada kelompok tikus kontrol dan kelompok tikus yang diberikan air oksigen dan disajikan dalam bentuk tabel. Data dianalisis dengan uji statistik yaitu *Anova One Way* dengan dengan tingkat kepercayaan 95%

### Hasil Penelitian

Perlakuan hewan coba dilakukan kegiatan aklimatisasi selama 2 minggu. Hal ini dilakukan dengan tujuan memberikan kesempatan tikus untuk beradaptasi dengan lingkungan di Laboratorium dan untuk meningkatkan berat badan tikus menjadi berat badan ideal. Berat badan dari 30 ekor tikus yang didapat awalnya rerata di bawah 90 gr. Setelah dilakukan aklimatisasi rerata berat badan tikus naik menjadi rerata 131.3 gr. Setelah proses aklimatisasi selesai ternyata terdapat 2 ekor tikus mati karena stres. Selanjutnya dilakukan perlakuan hewan coba dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok I diberikan air pentagonal, kelompok II diberi air hexagonal dan kelompok III diberi aquadest sebagai kelompok kontrol. Pemberian air dilakukan dengan volume setiap kali disonde sebanyak 2.5 ml selama 3 kali sehari selama 5 hari. Setelah perlakuan selama 5 hari tikus tersebut diambil darah dengan teknik pengambilan darah lewat jantung (*intracardial*). Selanjutnya darah tersebut dipisahkan serumnya untuk diperiksa kadar MDA dalam darah tikus.

Setelah dilakukan aklimatisasi, perlakuan hewan coba sampai pengambilan darah. Selanjutnya pembuatan serum dengan pemusingan dengan sentrifuge selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya pengepakan dan pengiriman sampel ke laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UGM untuk pemeriksaan kadar MDA dalam darah tikus. Rencana awal pemeriksaan dilakukan di Fakultas Kedokteran UNRAM akan tetapi sarana tidak ada sehingga tim peneliti merujuk ke UGM.

Tabel 1. Tabel 1 Daftar hasil pengukuran kadar MDA pada tikus *Rattus nervegicus* yang diberikan air beroksigen ( Aquadest )

No. Sampel	Kadar MDA ( $\mu\text{M/L}$ )	Ket-
1	3,14	
2	6,78	
3	2,35	
4	2,09	
5	2,35	
6	3,14	
7	2,61	
8	5,74	
9	2,35	
<b>Rerata</b>	<b>3,06</b>	

Berdasarkan hasil tabel 1, bahwa rerata kadar MDA (*malondialdehyde*) pada tikus yang diberikan aquadest sebagai kelompok kontrol adalah 3,06  $\mu\text{M/L}$ . Jumlah sampel sebenarnya 10 tetapi 1 ekor tikus mati akibat stres pada saat aklimasi selama 2 minggu. Berdasarkan tabel 1. di atas tidak terdapat sampel serum tikus yang lisis.

Tabel 2. Daftar hasil pengukuran kadar MDA pada tikus *Rattus norvegicus* yang diberikan air beroksigen ( Air Pentagonal)

No. Sampel	Kadar MDA ( $\mu\text{M/L}$ )	Ket-
1	9,38	
2	4,70	
3	3,40	
4	2,61	
5	2,87	
6	3,66	
7	3,40	
8	4,18	
9	14,06	
10	2,61	
<b>Rerata</b>	<b>5,09</b>	

Berdasarkan tabel 2, bahwa kadar MDA (*malondialdehyde*) yang didapat menunjukkan kadar MDA pada sampel no 1-10 yang diberikan air pentagonal adalah rerata 5,09  $\mu\text{M/L}$ . Pada tabel 5.2 terdapat dua sampel (sampel no. 1 9,34  $\mu\text{M/L}$  dan sampel no. 9 14,06  $\mu\text{M/L}$ ) yang menunjukkan kadar MDA jauh lebih tinggi dibandingkan rerata kadar MDA pada ketiga perlakuan. Hal ini terjadi karena kondisi kedua sampel terjadi lisis.

Tabel 3. Daftar hasil pengukuran kadar MDA pada tikus *Rattus norvegicus* yang diberikan air beroksigen ( Air Hexagonal )

No. Sampel	Kadar MDA ( $\mu\text{M/L}$ )	Ket-
1	2,35	
2	4,18	
3	3,92	
4	3,92	
5	3,92	
6	2,87	
7	3,14	
8	1,57	
9	5,48	
<b>Rerata</b>	<b>3,14</b>	

Berdasarkan tabel 3, bahwa rerata kadar MDA (*malondialdehyde*) pada tikus yang diberikan air beroksigen (Hexagonal ) adalah 3,14  $\mu\text{M/L}$ . Jumlah sampel sebenarnya 10 tetapi 1 ekor tikus mati akibat stres pada saat aklimasi selama 2 minggu. Berdasarkan tabel 3. di atas tidak terdapat sampel serum tikus yang lisis.

**Tabel 4. Hasil uji statistik**

	Kadar MDA
Chi-Square	1.280
df	2
Asymp. Sig.	.527

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Berdasarkan hasil statistik menunjukkan nilai  $p\ 0,527 > \alpha$  yang berarti tidak ada perbedaan secara signifikan kadar MDA pada tikus yang diberikan air beroksigen sehingga tidak memberikan efek/ dampak terhadap kerusakan seluler.

### **Pembahasan**

Hasil Profil MDA dalam serum berfungsi sebagai sebuah penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas (Inoue, 2001). MDA merupakan dialdehid tiga karbon yang sangat reaktif yang juga dapat diperoleh dari hidrolisis pentosa, deoksiribosa, heksosa, beberapa asam amino dan DNA (Evans, 1991). Pengukuran kadar MDA pada 3 kelompok tikus *Rattus norvegicus* dilakukan untuk melihat bagaimana profil kadar MDA dalam darah tikus sebagai penanda adanya kerusakan seluler.

Kelompok normal memiliki kadar MDA yang lebih rendah dibanding kelompok perlakuan hal ini dapat terjadi dikarenakan kadar MDA yang terbentuk sangat bergantung pada jumlah stres oksidatif dan hanya mampu dinetralisasi oleh antioksidan sedangkan pada kondisi normal kadar MDA dapat terbentuk pada kadar yang rendah. Saat keadaan normal, peroksidasi lipid di dalam tubuh masih dapat diatasi oleh antioksidan alami (antioksidan endogen) yaitu katalase, *superoksida dismutase* (SOD) dan *glutathion peroksidase*.

Pada dasarnya oksigen yang masuk melalui saluran pencernaan dapat berdifusi dalam darah dan diharapkan dapat meningkatkan ketersediaan oksigen dalam tubuh serta memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan, namun Piantadosi (2006) menyebutkan bahwa penyerapan air beroksigen oleh secara signifikan tidak memberikan pengaruh pada performa seseorang yang berolahraga. Adanya keraguan penyerapan oksigen oleh usus telah diperkuat oleh hasil penelitian Nestle et al. (2004) bahwa meminum air beroksigen dengan kandungan CO<sub>2</sub> yang rendah, dapat meningkatkan jumlah oksigen pada lumen *oral cavity* dan usus. (Refdi CW, dkk, 2014)

Kekhawatiran dalam mengonsumsi minuman beroksigen adalah dugaan peningkatan produksi reactive oxygen species (ROS) karena suplai oksigen dalam konsentrasi tinggi. Hal ini dikhawatirkan dapat menyebabkan luka pada sel termasuk kerusakan DNA bila pertahanan antioksidan dalam tubuh tidak baik. Namun berdasarkan penelitian Speit et al. (2002), konsumsi minuman beroksigen tidak menimbulkan efek genotoksik berdasarkan uji in vivo dan in vitro. Sedangkan penelitian yang dilakukan Gruber et al (2005) menunjukkan konsumsi air beroksigen dalam jangka panjang tidak membahayakan hati, sel darah dan sistem imun (Zakaria F.R, dkk, 2014).

Semakin tinggi kadar radikal semakin tinggi kadar MDA yang terbentuk. Hal ini tidak nampak pada hasil penelitian jika dilihat dari hal tersebut karena kadar MDA yang didapat pada ketiga perlakuan tidak jauh berbeda dengan kadar pada kelompok kontrol. Hal ini juga kemungkinan bahwa belum terjadi paparan radikal bebas pada kelompok hewan coba. Jika perlakuan hewan coba ini dilakukan dalam jangka waktu yang panjang mungkin akan mendapatkan hasil yang lebih bermakna pengaruhnya terhadap ada tidaknya kerusakan seluler.

### **Kesimpulan**

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini maka dapat ditarik kesimpulan bahwa : Rerata kadar MDA pada kelompok tikus kontrol adalah 3,06 µM/L; Rerata kadar MDA pada kelompok tikus yang diberikan air pentagonal adalah 5,09 µM/L; Rerata kadar MDA pada kelompok tikus yang diberikan air hexagonal adalah 3,14 µM/L; Tidak ada perbedaan secara signifikan kadar MDA pada tikus yang diberikan air beroksigen sehingga tidak memberikan efek/ dampak terhadap kerusakan seluler.

### **Referensi**

- Aazza, S., Lyoussi, B. & Miguel, M.G., 2011, *Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds*. *Molecules* (Basel, Switzerland). [Online] 16 (9), 7672–7690. Available from: doi:10.3390/molecules16097672 [Accessed: 23 November 2012].
- Ali, M., Al, A. & Alghalibi, S.M., 2011, *Research Article [ Araştırma Makalesi ] Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Thymus vulgaris* from Yemen*, 36 (April), 342–349.
- Asni E., Harahap IP., Prijanti AR., Wanandi SI., Jusman SWA., dan Sadikin M. 2009. *Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehid, Glutathion Tereduksi, dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus*, *Maj Kedokt Indon*, 59(12): 595-600.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. & Hagen, T.M., 1993, *Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 90 (17), 7915–7922.

Cesar Welya Refdi, Fransiska Rungkat Zakaria, Puspo Edi Giriwono, 2014, *Pengaruh Minuman Beroksigen Terhadap Sistem Imun, Kadar Malondialdehide dan Performa Responden Mahasiswa Olahragawan* <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jtip>. OI:10.6066/jtp.2014.25.1.90

Danusantoso, H., 2003, *Peran radikal bebas terhadap beberapa penyakit paru*, 22 (1), 31–36.

Dewi, P., 2006, *Nilai peroksida dan aktivitas anti radikal bebas diphenyl picril hydrazil hydrate ( DPPH ) ekstrak metanol Knema laurina Peroxide value and DPPH (diphenyl picril hydrazil hydrate ) free radical scavenger activity of Knema laurina*. 17(1), 32–36

Dimitrios, B., 2006, *Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science & Technology*, [Online] 17 (9), 505–512. Available from: doi:10.1016/j.tifs.2006.04.004 [Accessed: 21 November 2012]

Elgml, Shima A., & Hashish, Emad. A., 2014, *Clinicopathological studies of Thymus vulgaris Extract Against Cadmium Induced Hepatotoxicity in Albino Rats*, Global Journal of Pharmacology 8 (4): 501-509

Latifa, K.I. 2015 Skripsi, *Profil Kadar MDA (Malondialdehide) padatikus yang diberikan ekstrak herba Thymi (Thymus vulgaris L)*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Nielsen, F., Mikkelsen, B.B., Nielsen, J.B., Andersen, H.R., dan Grandjean, P. 1997. *Plasma Malondialdehyde as Biomarker for Oxidative Stress: Reference Interval and Effect of Life-style Factors*. Journal Clinical Chemistry, 43(7): 1209-1214.

Olmaz R, Turgutalp K, Oguz EG, Horoz M, Ozhan O, Muslu N, Sungur MA, Kiykim A. 2012 *Does the MRI or MRI contrast medium gadopentetate dimeglumine change the oxidant and antioxidant status in humans?* ;54(1):30-4.

Purwanto, Y., 2008, *Seni Terapi Air*, Jurnal Sosioteknologi Institut Teknologi Bandung, edisi 13 Tahun 7, April 2008.

Refdi, C.W., F.R. Zakariadan P.E. Giriwono, 2014, *Pengaruh Minuman Beroksigen Terhadap Sistem Imun, Kadar Malonaldehida dan Performa Responden Mahasiswa Olahragawan*, J. Teknoldan Industri Pangan, Vol. 25 No. 1 Th. 2014 Hal 32-38.

Rahardjani, Kamilah Budi. 2010. *Hubungan antara Malondialdehyde (MDA) dengan Hasil Luaran Sepsis Neonatorum*. Jurnal Sari Pediatri, 12(2): 82-87.

Wresdiyati T., Astawan M., Fithriani D., Adnyane KM., Novelina S., dan Aryani S., 2004. *Pengaruh  $\alpha$ -Tokoferol Terhadap Profil Superoksida Dismutase dan Malondialdehida pada Jaringan Hati Tikus di Bawah kondisi Stres*, Jurnal Veteriner, 202-209.

Zainuri, M. dan Wanandi, S.I. 2012. *Aktivitas Spesifik Manganase Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Katalase pada Hati Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif*. Jurnal Media Litbang Kesehatan, 22(2): 87

Zakaria, F.R., I.N. Azni, E. Syamsir, KM. Amaliadan C. Yamani, 2014, *Pengaruh Konsumsi Minuman Beroksigen Terhadap Inflamasi dan Kapasitas Antioksidan Penderita Penyakit Paru Obstruktif Kronik (PPOK)*. J. Teknol dan Industri Pangan, Vol. 25 No. 1 Th. 2014 Hal 32-38.