

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI
TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

(Skripsi)

Oleh

WULAN ALAWIYAH JAHRA



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF CARBONATED SOFT DRINKS CONSUMPTION ON GASTRIC HISTOPATHOLOGY CHANGES OF MALE *Sprague dawley* WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

WULAN ALAWIYAH JAHRA

Background: Carbonated soft drink is classified as a non-alcoholic type of beverages which gone through carbonation proses with additions of caffeine and phosphoric acid. Increasing in the consumption of carbonated soft drink already happening for the last two decades. Based on 88 meta-analytical studies, it shows that consumption of carbonated soft drink may lead into several health issues, for examples an effect on gastrointestinal.

Objective: The aim of this research is to observe any changes that might happen in gastric histopathological of white male rats (*Rattus norvegicus*) with *Sprague-dawley* strain because of the consumption of carbonated soft drink.

Method: Quasi experimental research was done with randomized controlled method using post test only control group design. 24 white male rats (*Rattus norvegicus*) with *Sprague-dawley* strain was divided into 4 groups, consist of control group (K) which was given aquadest, treatment 1 group (P1) which was given carbonated soft drink with 3 ml/200 g/day, treatment 2 group (P2) with 6 ml/200 g/day, treatment 3 group (P3) with 12 ml/200 g/day. Overall research was observed for 30 days.

Result: Average score of damage in gastric mucosa obtained using One Way ANOVA test with $p=0.00$ was 0.17 for control group, 0.7 for P1 group, 1.07 for P2 group, and 1.53 for P3 group. The test was followed by post hoc LSD test which resulted significant difference for all type of groups ($p<0.05$).

Conclusion: There is a significant difference of carbonated soft drink consumption into white male rats (*Rattus norvegicus*) of *Sprague-dawley* strain gastric histopathological changes.

Keywords: Carbonated soft drink, gastric histopathological, effect on gastrointestinal, white rats.

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*

Oleh

WULAN ALAWIYAH JAHRA

Latar Belakang: Minuman ringan berkarbonasi adalah minuman non-alkohol yang mengalami proses karbonasi dengan tambahan zat seperti kafein dan asam fosfat. Pada dua dekade terakhir telah terjadi peningkatan konsumsi minuman berkarbonasi di dunia. Delapan puluh delapan studi meta-analisis menunjukkan bahwa konsumsi minuman ringan berkarbonasi dapat menimbulkan masalah kesehatan seperti efek gastrointestinal.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah minuman ringan berkarbonasi dapat mempengaruhi perubahan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Metode: Jenis penelitian kuasi eksperimental metode rancangan acak terkontrol menggunakan *post test only control group designs*. Sampel terdiri dari 24 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley*, dibagi menjadi 4 kelompok: kelompok kontrol (K) hanya diberi aquades, perlakuan 1 (P1) diberi minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 3 ml/200 gr/hari, perlakuan 2 (P2) 6 ml/200 gr/hari, dan perlakuan 3 (P3) dengan dosis 12 ml/200 gr/hari diberikan selama 30 hari.

Hasil: Rerata skor kerusakan mukosa lambung pada kelompok K:0,17, P1:0,7, P2:1,07, dan P3:1,53. Data yang diperoleh diuji menggunakan One Way ANOVA didapatkan penelitian bermakna $p=0,00$, dilanjutkan dengan *post hoc* LSD didapatkan perbedaan bermakna pada semua kelompok ($p<0,05$).

Simpulan: Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Kata Kunci: Minuman ringan berkarbonasi, histopatologi lambung, efek gastro intestinal, tikus putih.

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI
TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS
PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

Oleh
WULAN ALAWIYAH JAHRA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar

SARJANA KEDOKTERAN

pada

Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley***

Nama Mahasiswa : **Wulan Alawiyah Jahra**

No Pokok Mahasiswa : **1518011072**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**



MENYETUJUI

1. **Komisi Pembimbing**

Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA **dr. Roro Rukmi Windi P., S.Ked., M.Kes., Sp.A**
NIP.19701208 200112 1 001 NIP.19810505 200604 2 002

MENGETAHUI

2. **Dekan Fakultas Kedokteran**

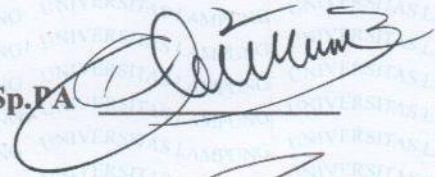
Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP.19701208 200112 1 001



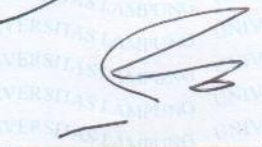
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

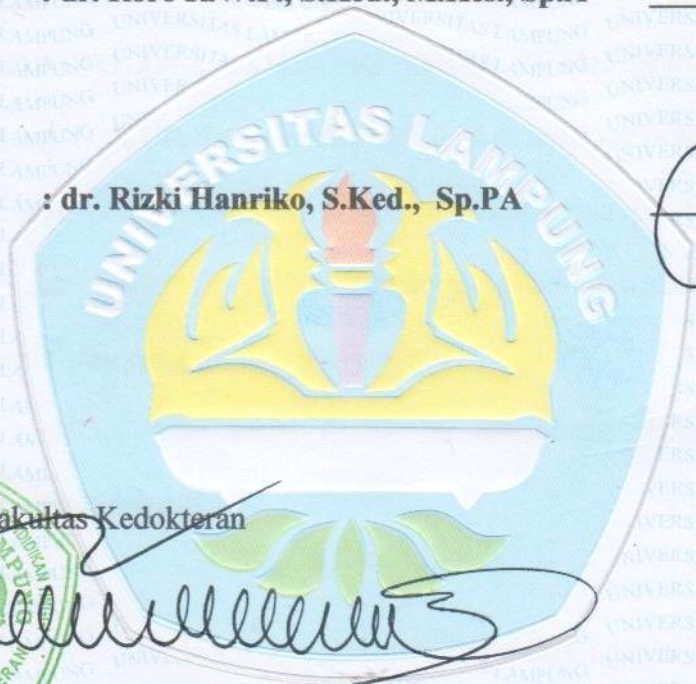
Ketua : Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA



Sekretaris : dr. Roro R.W.P., S.Ked., M.Kes., Sp.A



Penguji : dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP.19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian: 14 Januari 2019



LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual dan karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 14 Januari 2019

Pembuat pernyataan,



Wahid Alawiyah Jahra
NPM.1518011072

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jagakarsa, Jakarta Selatan pada hari Sabtu tanggal 05 Oktober 1996, sebagai anak pertama dari dua bersaudara, dari Bapak Yoyon Eno Suharna dan Ibu Sopiah.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan pada Roudothul Athfal Annisa pada tahun 2001, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di MIN 8 Jakarta pada tahun 2008, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di MTsN 4 Jakarta pada tahun 2011 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di MAN 4 Jakarta pada tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kesehatan Masyarakat di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. Kemudian pada tahun 2015 penulis melakukan tes kembali dan terdaftar sebagai mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum anatomi pada tahun 2017-2018 dan aktif pada beberapa organisasi, yaitu Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina sebagai Sekretaris Biro Bimbingan Belajar Qur'an (BBQ) pada tahun 2016-2017, Forum Ukhuwah Lembaga Dakwah Fakultas Kedokteran

(FULDFK) Indonesia Dewan Eksekutif Pusat (DEP) sebagai Staff Departemen Kajian Kedokteran Islam dan Advokasi (KKIA) pada 3 Periode (2016-2019).

“Bukankah Kami telah melapangkan untukmu dadamu?(1), dan Kami telah menghilangkan darimu bebanmu(2), yang memberatkan punggungmu?(3), dan Kami tinggikan bagimu sebutan (nama)mu(4), karena sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan(5), sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan(6), maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan)(7), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmu-lah engkau berharap(8)”

[Q.S. Al-Insyirah (94): 1-8]

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya, serta menguatkan dan memudahkan setiap proses sehingga skripsi ini dapat diselesaikan tepat waktu.

Skripsi berjudul **“PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN RINGAN BERKARBONASI TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley*”** ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang selalu membimbing saya dalam kehidupan ini, puji syukur atas nikmat iman dan islam serta hidayah yang Engkau beri, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik;
2. Prof. DR. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P., selaku rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Muhartono, S.Ked, M.kes, Sp. PA., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Pembimbing I saya, terimakasih

banyak karena telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik saran, dan membimbing saya dalam penyelesaian skripsi ini;

4. dr. Roro Rukmi Windi P, S.Ked, M.Kes, Sp.A., selaku Pembimbing II saya, terimakasih banyak karena telah meluangkan waktu untuk membantu, memberi kritik, saran, dan membimbing saya dalam penyelesaian skripsi ini;
5. dr. Rizki Hanriko, S.Ked, Sp.PA., selaku Penguji Skripsi, terimakasih atas kesediaan, kritik, serta saran yang mendukung untuk penelitian saya sejak seminar proposal;
6. dr. Merry Indah Sari, S.Ked, M.Med.Ed., selaku Pembimbing Akademik, terimakasih atas bimbingan, nasihat, dan waktu selama menjalani proses perkuliahan ini;
7. Seluruh civitas akademik dan karyawan FK Unila, terimakasih atas pelajaran pengalaman yang diberikan selama perkuliahan dan sangat membantu dalam melaksanakan penelitian ini, terutama untuk Bu Nuriyah, Mas Bayu, Mba Mar, Mba Qori, Mba Novi, dan Mas Darman.
8. Ayah, Mamah, Mawar, dan keluarga besar, terimakasih atas setiap kasih sayang doa dan dukungannya baik moril maupun materil yang tidak pernah terputus sehingga perkuliahan dan penyelesaian skripsi ini dapat berjalan dengan lancar;
9. Abi Mukhlis, Ummi Laela, dan keluarga Asrama Putri MAN 4 Jakarta, terimakasih atas doa ilmu dan motivasinya sejak masih di Asrama hingga sekarang ini;

10. dr. H. Sibroh Malisi, S.Ked., MARS., terimakasih atas bantuan motivasi dan sarannya sehingga saya dapat memutuskan untuk melanjutkan studi ke Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
11. Ummi Heri, Ummi Dian, dan Among, terimakasih telah menjadi sosok ibu dan nenek di perantauan, ilmu, doa dan motivasinya sangat membantu dalam menyelesaikan perkuliahan dan skripsi ini;
12. Chida, Addila, Anjar, Icha, dan Sarah, terimakasih telah menemani sejak awal perkuliahan dan tidak lelah untuk saling memberi semangat dan nasihat satu sama lain walaupun sedang berjuang di studinya masing-masing;
13. Teman-teman seper-tikusan *cola* Fadila dan Nikom, terimakasih banyak atas kerjasamanya selama ini, suka duka penelitian ini semoga menjadi pelajaran berharga untuk kita semua;
14. Teman-teman satu bimbingan Reihan, Jokowi, Nanda, Arini, Mega, dan Neli. Terimakasih banyak karena sudah sering menunggu kehadiran dokter bersama dan saling menyemangati untuk menyelesaikan skripsi kita, terkhusus untuk Reihan karena telah membantu proses intervensi dan terminasi hewan coba;
15. Sonia, Almira, Dianti, dan Melati, terimakasih telah memberikan informasi mengenai SPSS untuk mengolah data penelitian, sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik;
16. Fauziah, Eva, Anis, Oti, Rika, Etika, Vani, dan Vioren terimakasih atas kebersamaannya selama ini, saling mendoakan, menguatkan dan

memberikan semangat untuk menyelesaikan perkuliahan dan skripsi ini;

17. Keluarga seperjuangan Endomisium 2015, terimakasih atas segala kebaikan serta dukungan yang diberikan dan tidak dapat saya ucapkan satu-persatu;

18. Keluarga besar FSI Ibnu Sina FK UNILA dan keluarga besar Departement KKIA (Gemilang & CendeKKIA) DEP FULDFK, terimakasih atas kesempatan belajar, bertukar pikiran, dan saling menyemangati serta menasihati agar dapat menjalankan dakwah profesi kelak nanti;

19. Tia, Mba Gustin, Rapita, Bella, Mba Andan, Bayu, dan Arif, keluarga KKN Pekon Unggak, terimakasih atas doa dan dukungannya dalam proses penyelesaian skripsi ini;

20. Ana, Natasha, dan Itul terimakasih atas semangat dan doanya dari jauh yang sangat membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi semoga skripsi yang sederhana ini berguna dan bermanfaat bagi setiap orang yang membacanya.

Bandar Lampung, 14 Januari 2019

Penulis

Wulan Alawiyah Jahra

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Minuman ringan berkarbonasi.....	6
2.1.1 Pengertian Minuman Ringan Berkarbonasi	6
2.1.2 Komposisi Minuman Ringan Berkarbonasi.....	7
2.1.3 Tingkat Konsumsi Minuman Ringan Berkarbonasi.....	11
2.2 Lambung.....	12
2.2.1 Anatomi.....	12
2.2.2 Histologi.....	15
2.2.3 Biokimia.....	19
2.2.4 Fisiologi	21
2.3 Efek Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Lambung.....	23
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	24

2.5	Kerangka Teori.....	26
2.6	Kerangka Konsep	28
2.7	Hipotesis.....	28
BAB III METODE PENELITIAN		29
3.1	Desain Penelitian	29
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	29
3.3	Instrumen Penelitian.....	30
3.3.1	Alat Penelitian.....	30
3.3.2	Bahan Penelitian.....	31
3.4	Subjek Penelitian.....	32
3.4.1	Populasi.....	32
3.4.2	Sampel.....	32
3.4.3	Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	35
3.5	Variabel Penelitian	36
3.5.1	Variabel Bebas (<i>Independent Variabel</i>).....	36
3.5.2	Variabel Terikat (<i>Dependent Variabel</i>)	36
3.5.3	Definisi Operasional.....	36
3.6	Diagram Alur Penelitian.....	39
3.7	Prosedur Penelitian.....	40
3.7.1	Aklamatisasi Hewan Coba	40
3.7.2	Penentuan Dosis Minuman Ringan Berkarbonasi.....	40
3.7.3	Pembuatan Preparat Histopatologi.....	41
3.8	Analisis Data	45
3.9	<i>Ethical Clearance</i>	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		47
4.1	Hasil Penelitian.....	47
4.1.1	Gambaran Histopatologi Lambung Tikus.....	48
4.1.2	Analisis Histopatologi Lambung Tikus	51
4.2	Pembahasan	55
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....		60

5.1	Simpulan.....	60
5.2	Saran.....	60
	DAFTAR PUSTAKA.....	61
	LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Penampang anterior empat bagian lambung: <i>pars cardiaca, fundus, corpus gastrica</i> , dan <i>pars pyloric</i>	13
2. Perdarahan atau vaskularisasi lambung.	14
3. Gambaran histologi lapisan dinding lambung.....	17
4. Histologi normal mukosa antrum gaster perbesaran 200x.....	18
5. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	25
6. Diagram Alur Penelitian	39
7. Gambaran Histopatologi Lambung Kelompok K perbesaran 400x.....	48
8. Gambaran Histopatologi Lambung Kelompok P1 Perbesaran 400x.	49
9. Gambaran Histopatologi Lambung Kelompok P2 Perbesaran 400x	50
10. Gambaran Histopatologi Lambung Kelompok P3 Perbesaran 400x	50
11. Perbandingan Gambaran Histopatologi Lambung.....	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan dalam 330 ml Coca-cola®	10
2. Kandungan Kafein dalam 30g Minuman Ringan Berkarbonasi	11
3. Data Hasil Pengamatan Gambaran Histopatologi Lambung Tikus	52
4. Hasil Analisis <i>post hoc</i> LSD	54

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam dua dekade terakhir, telah terjadi peningkatan tren penjualan dan konsumsi minuman ringan berkarbonasi di seluruh dunia. Tingkat konsumsi minuman ringan berkarbonasi sangat mengkhawatirkan, terutama di negara-negara maju, contohnya di Australia, 63% anak-anaknya mengkonsumsi satu minuman kaleng 375 ml per hari. Studi terbaru yang dilakukan di Arab Saudi menunjukkan bahwa konsumsi minuman ringan berkarbonasi atau minuman bersoda menyumbang proporsi terbesar pada anak dan remaja dengan frekuensi 3 kali per hari. Penelitian di Nigeria menunjukkan bahwa lebih dari 70% anak diberi minuman ringan, termasuk Coca-Cola®, Pepsi-Cola®, dan Seven-Up® (Alkhedaide *et al.*, 2016; Adjene *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2007).

Salah satu jenis minuman ringan berkarbonasi yang sangat digemari masyarakat di seluruh dunia adalah jenis cola, total jumlah kaleng terjual per hari pada tahun 2007 di seluruh dunia mencapai 67.873.309 (Ramstad, 2010). Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh nusaresearch pada tahun 2014 mengenai kebiasaan orang Indonesia dalam mengonsumsi minuman ringan

berkarbonasi didapatkan bahwa 30,7% dari responden mengatakan setidaknya 2-3 kali mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi dalam seminggu dan 18,5% responden mengatakan mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi lebih dari 3 kali dalam seminggu. Minuman ringan berkarbonasi yang paling banyak dikonsumsi oleh responden terdiri dari Coca-cola® (99,4%), Fanta® (98,7%) dan Sprite® (97,5%) (Nusaresearch, 2014).

Tingginya daya konsumsi masyarakat terhadap minuman ringan berkarbonasi perlu mendapatkan perhatian dari segi kesehatan. Kebanyakan orang menganggap konsumsi minuman ringan berkarbonasi tidak berbahaya, namun terdapat sejumlah masalah kesehatan serius yang terkait dengan konsumsi minuman ringan berkarbonasi secara reguler. Delapan puluh delapan studi meta-analisis yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara konsumsi minuman ringan berkarbonasi dengan status gizi dan masalah kesehatan (Alkedhaide *et al.*, 2016; Adjene *et al.*, 2010; Vartanian *et al.*, 2007). Masalah kesehatan yang dipengaruhi oleh konsumsi minuman ringan berkarbonasi diantaranya: malnutrisi, efek gastrointestinal, obesitas, osteoporosis, nefrolitiasis, dan karies gigi (Das dan Rajput, 2013).

Minuman ringan berkarbonasi mengandung air berkarbonasi, asam fosfat, kafein, gula dalam bentuk sukrosa dan *high*-fruktosa serta bahan kimia lainnya dalam bentuk bahan pengawet, pewarna dan rasa. Karbonasi ini menghasilkan gas CO₂ yang akan menimbulkan gelembung saat wadah minuman dibuka.

CO₂ yang tidak keluar akan terlarut menjadi HCO³⁻ dan H⁺ yang berinteraksi dengan H₂O dan juga zat aditif seperti asam sitrat dan asam fosfat akan menimbulkan suasana asam pada minuman ini dengan pH 2-3. Selain itu terdapat bahan aktif lain dalam minuman ringan berkarbonasi yaitu kafein. Kafein dalam minuman berkarbonasi sengaja ditambahkan untuk membuat efek adiktif individu, dan mudah diserap dengan cepat dibandingkan dengan minuman lainnya (Adjene *et al.*, 2010; Ramstad, 2010).

Pada penelitian sebelumnya oleh Alkhedaide dkk di Saudi Arabia mengenai efek kronik dari konsumsi minuman ringan berkarbonasi pada Tikus Wistar, telah dikonfirmasi bahwa konsumsi minuman ringan berkarbonasi rutin dalam waktu lama dapat menginduksi stres oksidatif, perubahan metabolik, dan perubahan ekspresi gen. Stres oksidatif telah dikaitkan dengan etiologi dan patogenesis berbagai penyakit kronis dan berperan penting dalam proses penuaan. Tingkat radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan kerusakan langsung pada lipid di dalam membran sel dan menyebabkan peroksidasi (Alkhedaide *et al.*, 2016). Peroksidasi membran sel pada mukosa lambung dapat meningkatkan permeabilitas sawar epitel mukosa lambung, sehingga memungkinkan difusi balik asam klorida yang mengakibatkan kerusakan jaringan, terutama pembuluh darah. Keluarnya histamin merangsang sekresi asam lambung dan pepsin lebih lanjut dan meningkatkan permeabilitas kapiler terhadap protein. Mukosa lambung menjadi edema dan sejumlah besar protein plasma dapat hilang. Mukosa kapiler dapat rusak, mengakibatkan terjadinya perdarahan interstitial.

Perubahan struktur histopatologi yang tampak berupa sebaran sel-sel neutrofil yang menginvasi epitelium dengan pelepasan lapisan epitel superfisial atau disebut juga erosi (Carmiel, 2013; Mitchell *et al.*, 2009).

Mengingat tingginya daya konsumsi masyarakat Indonesia terhadap minuman ringan berkarbonasi, maka perlu dilakukan studi gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diberikan minuman ringan berkarbonasi dengan kadar berbeda untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada histopatologi lambung.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pada uraian diatas, maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

“Apakah terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*?”

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Sebagai wujud penerapan disiplin ilmu yang telah dipelajari, sehingga dapat mengembangkan wawasan peneliti.

2. Bagi Masyarakat

Dapat memberikan informasi mengenai efek yang mungkin muncul akibat konsumsi minuman ringan berkarbonasi yang berlebihan terhadap kesehatan lambung.

3. Bagi Peneliti Lain

Dapat dijadikan referensi atau pustaka untuk dikembangkan pada penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap histopatologi organ lambung.

4. Bagi Ilmu Kedokteran

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi pengetahuan bagi fakultas kedokteran terutama dalam bidang patologi anatomi berkaitan dengan pengaruh minuman ringan berkarbonasi terhadap histopatologi lambung.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman ringan berkarbonasi

2.1.1 Pengertian Minuman Ringan Berkarbonasi

Minuman ringan berkarbonasi adalah minuman ringan *non-alkohol* berbahan dasar air yang secara operasional ditambahkan pemanis alami atau pun buatan, serta diasamkan dengan proses karbonasi. Minuman ringan berkarbonasi berdasarkan jenis pemanisnya dibedakan menjadi dua, yaitu *sugar sweetened soft drink* dan *non-sugar sweetened soft drink*. *Sugar sweetened soft drink* merupakan minuman ringan berkarbonasi dengan zat pemanis yang berasal dari gula, sedangkan *non-sugar sweetened soft drink* merupakan minuman ringan berkarbonasi dengan zat pemanis yang berasal dari pemanis buatan. Minuman ringan berkarbonasi juga terbagi menjadi berbagai jenis, yaitu minuman ringan berkarbonasi rendah kalori, tidak berkalori, kafein, dan tidak berkafein (Australian Beverages Council, 2016; Johnson, 2006; Cola Company, 2016).

2.1.2 Komposisi Minuman Ringan Berkarbonasi

Komposisi atau jenis- jenis kandungan zat yang terdapat di dalam minuman ringan berkarbonasi menurut *Australian Beverages Council* (2016) dan *British Soft Drink Association* (2017), adalah sebagai berikut:

1. Air berkarbonasi

Air merupakan bahan utama minuman ringan berkarbonasi yaitu sekitar 90-98 %. Air berkarbonasi atau air soda yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi yaitu sebesar 86%, di dalam air soda, terdapat kandungan gas berupa karbon dioksida (CO₂).

2. Karbon dioksida (CO₂)

Karbon dioksida (CO₂) ditambahkan pada minuman ringan berkarbonasi untuk memunculkan rasa *fizziness* pada saat meminumnya.

3. Pemanis

Rasa manis yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi dapat berasal dari sukrosa atau pemanis buatan. Sukrosa merupakan perpaduan antara fruktosa dan glukosa yang termasuk dalam karbohidrat. Jumlah sukrosa yang terdapat dalam minuman ringan berkarbonasi sekitar 10%. Kondisi asam pada minuman ringan berkarbonasi, akan membantu menghidrolisis sukrosa (disakarida glukosa dan fruktosa) membentuk campuran yang sama antara glukosa monosakarida dan fruktosa. Glukosa dan sirup fruktosa

juga bisa digunakan untuk memberi rasa manis. Semua gula memiliki kandungan kalorinya yang sama kira-kira 4 kcals/g namun memiliki tingkat kemanisan yang berbeda, misalnya pada fruktosa sedikit lebih manis daripada sukrosa dan glukosa kurang manis dibanding sukrosa. Pemanis buatan yang sering dipakai dalam minuman ringan berkarbonasi ialah aspartam. Aspartam dibentuk dari perpaduan asam aspartat dengan fenilalanin dan bersifat 200 kali lebih manis dari gula sehingga hanya sedikit jumlah aspartam yang terkandung dalam minuman ringan berkarbonasi.

4. Perasa

Bahan perasa terdiri dari bahan perasa alami dan bahan perasa buatan. Cita rasa alami dalam minuman ringan berkarbonasi berasal dari berbagai macam buah, sayuran, kacang-kacangan, kulit kayu, daun, rempah-rempah, rempah-rempah dan minyak. Cita rasa buatan dalam minuman ringan berkarbonasi dibuat secara sintesis. Bahan perasa buatan digunakan agar minuman ringan berkarbonasi memberi rasa yang lebih baik.

5. Pewarna

Pewarna yang dalam minuman ringan berkarbonasi digunakan untuk membuat produk minuman ini lebih menarik secara estetis. Terdapat tiga kategori dasar pewarna, yaitu pewarna alami, pewarna buatan, dan pewarna pewarna caramel. Pewarna Alami bisa didapatkan dari ekstrak tanaman, buah, dan sayuran dan juga bisa diproduksi secara sintesis. Terdapat dua kategori utama yaitu

Caroteniod (memberi warna kuning hingga oranye) dan *Anthocyanin* (memberiwarna merah samapai ungu). Penggunaan pewarna buatan sudah mulai berkurang karena tren yang ada pada mayarakat bahwa pewarna ini berbahaya bagi kesehatan. Pewarna caramel adalah warna yang paling banyak digunakan dalam minuman ringan berkarbonasi. Pewarna caramel ini digunakan salah satunya pada Coca-cola® (Caramel E150d).

6. Kafein

Kafein berperan dalam meningkatkan rasa yang terkandung dalam minuman ringan berkarbonasi. Kafein yang terkandung dalam minuman ringan berkarbonasi berjumlah $\frac{1}{4}$ sampai $\frac{1}{3}$ dari jumlah kafein yang terkandung dalam kopi. Meskipun tidak sebanyak seperti pada kopi, namun kandungan kafein pada minuman ringan berkrbonasi juga dapat menimbulkan masalah kesehatan.

7. Asam

Asam berperan dalam menambah kesegaran dengan mengatur keseimbangan rasa dan kualitas pada minuman ringan berkarbonasi dengan meghambat pertumbuhan mikroorganisame dalam suasana asam. Asam yang dipergunakan yaitu asam sitrat (E330) dan asam fosfor (E338).

8. *Preservative*

Zat *perservatives* digunakan sebagai pengwet serta menjaga kontaminasi minuman ringan berkarbonasi dengan menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti jamur dan bakteri. Tidak

semua jenis minuman ringan berkarbonasi mengandung zat *preservatives* bergantung tipe dan produk serta proses pembuatannya. Terdapat empat jenis zat preservative, yaitu *Benzoates* (E210-E213), *Sorbates* (E200-E203), *Suphites* (E220-228), dan *Dimethyldicarbonate* (E242).

Kadar zat yang terkandung dalam 330 ml Coca-Cola dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Kandungan dalam 330 ml Coca-Cola®

Energy (kJ/46kcal)	139 kcal
Energy (kJ)	594 kJ
Lemak	0 g
Protein	0 g
Karbohidrat	35 g
Garam	0 g

(Cola Company, 2017)

Di dalam minuman ringan berkarbonasi juga terkandung kafein yang merupakan salah satu dari zat iritatif pada lambung. Dalam 30g minuman ringan berkarbonasi terkandung 2,7 mg kafein (tabel 2).

Tabel 2. Kandungan Kafein dalam 30g Minuman Ringan Berkarbonasi

Ukuran per-penyajian	%DV
Alkohol	0.0 mg
Air	28.0 mg
Kafein	2.7 mg
Teobromin	0.0 mg

(Nutritiondata, 2014)

2.1.3 Tingkat Konsumsi Minuman Ringan Berkarbonasi

Pada dua dekade terakhir, telah terjadi peningkatan tren penjualan dan konsumsi minuman ringan berkarbonasi di dunia. Tingkat konsumsi minuman ringan berkarbonasi sangat mengkhawatirkan, terutama di negara-negara maju, misalnya sekitar 63% anak-anak di Australia mengkonsumsi satu minuman kaleng 375 mL per hari. Studi terbaru yang dilakukan di Arab Saudi menunjukkan bahwa konsumsi minuman ringan berkarbonasi atau minuman bersoda menyumbang proporsi terbesar pada anak dan remaja dengan frekuensi rata-rata 3 kali per hari. Penelitian di Nigeria menunjukkan bahwa lebih dari 70% anak diberi minuman ringan, termasuk Coca-Cola®, Pepsi-cola®, dan Seven-Up® (Alkedhaide *et al.*, 2016; Adjene *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2007).

Menurut survei yang dilakukan oleh lembaga Nusaresearch team pada tahun 2014 di Indonesia, kebanyakan dari responden telah mengkonsumsi minuman ringan berkarbonasi 2-3 kali dalam seminggu dalam 3 bulan terakhir, 30,7% dari responden setidaknya 2-3 kali dalam seminggu mengkonsumsi *minuman* ringan berkarbonasi dalam 3 bulan

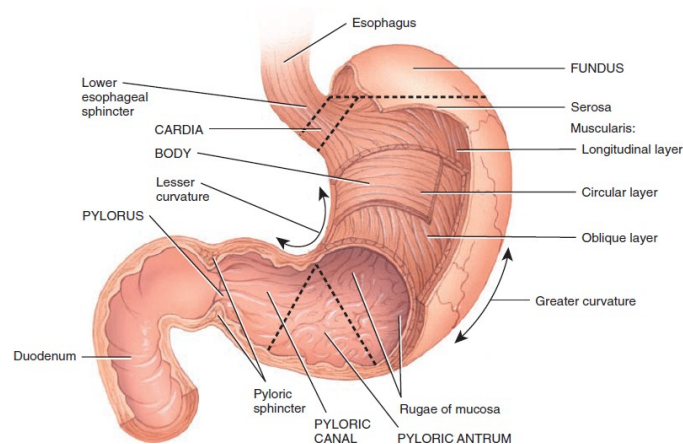
terakhir, dan 18,5% dari total responden yang mengonsumsi minuman ringan berkarbonasi lebih dari 3 kali seminggu dalam 3 bulan terakhir (Nusaresearch, 2014).

2.2 Lambung

2.2.1 Anatomi

Lambung (gaster) merupakan bagian saluran pencernaan yang melebar terletak di bagian atas abdomen. Lambung berbentuk seperti huruf J pada sebagian besar orang, namun bentuk dan posisi lambung dapat berbeda secara nyata pada orang dengan bentuk tubuh berbeda (habitus tubuh) dan bahkan pada orang yang sama sebagai akibat gerakan posisi diafragma selama respirasi, isi lambung, dan posisi orang tersebut. Lambung juga mempunyai dua lubang (*ostium cardiacum* dan *ostium pyloricum*) dan dua *curvatura* (*curvatura major* dan *curvatura minor*), serta dua permukaan (*facies anterior* dan *facies posterior*). *Curvatura minor* membentuk tepi kanan gaster dan dihubungkan ke hepar oleh omentum minus. *Curvatura major* jauh lebih panjang dari *curvatura minor* dan terbentang dari kiri *ostium cardiacum*, melalui kubah fundus, dan sepanjang tepi kiri lambung. *Omentum* (ligamentum) *gastrolienale* terbentang dari bagian atas *curvatura major* sampai ke lien. *Omentum majus* terbentang dari bagian bawah *curvatura major* sampai ke kolon transversum (Snell, 2012; Moore *et al.*, 2013).

Secara anatomis lambung dibagi menjadi empat bagian yaitu *pars cardiaca*, *fundus*, *corpus*, dan *pars pyloric*. Saluran sempit jalan masuk ke lambung yang disebut *pars cardiaca* (kardia), tempat esofagus berakhir. Bagian kubah atas lambung adalah *fundus* yang di bawahnya terdapat *corpus* (badan) *gastricum*. Bagian bawah lambung yang berbentuk corong disebut *pars pyloric* tempat keluar dari lambung yang berlanjut sebagai *antrum pyloricum*, *canalis pyloricum* dan *pylorus* yang berhubungan langsung dengan duodenum (Gambar.1). Pylorus berhubungan dengan duodenum melalui *sphincter* otot polos disebut sfingter *pylorus* (Tortora *et al.*, 2012; Paulsen, 2012; Snell, 2012; Eroschenko, 2016).

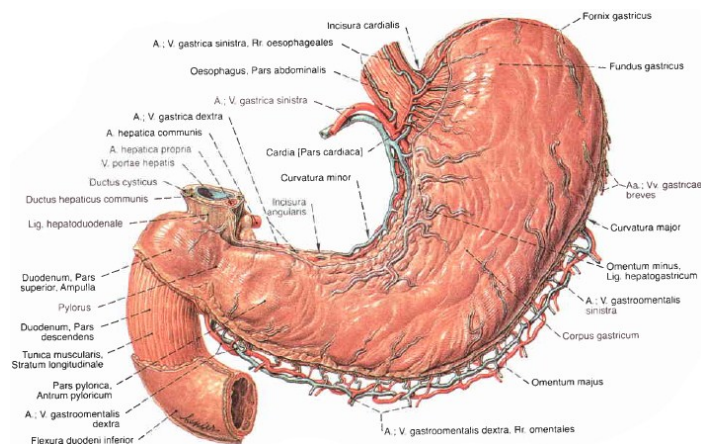


Gambar 1. Penampang anterior empat bagian lambung: *pars cardiaca*, *fundus*, *corpus gastrica*, dan *pars pyloric* (Tortora *et al.*, 2012).

Pengosongan lambung terjadi apabila tekanan intragastrik lebih besar dari resistensi *pylorus*. Pengosongan lambung yang normal merupakan

keadaan dimana *ostium pyloricum* mengecil, kecuali pada saat mengeluarkan *chyme* melalu *canalis pyloricus* dan *ostium pyloricum* kedalam *intestinum tenue* untuk proses pencampuran, digesti, dan absorpsi lebih lanjut (Moore *et al.*, 2013).

Lambung memiliki banyak suplai perdarahan yang berasal dari *truncus coeliacus* dan percabangnya. Sebagian besar darah disuplai oleh anastomosis yang terbentuk sepanjang *curvatura minor* oleh *arteria gastrica dextra* dan *sinistra*, dan sepanjang *curvatura major* oleh *arteria gastro-omentalis dextra* dan *sinistra*. *Fundus* dan *corpus* atas menerima suplai darah dari *arteria gastrica brevis* dan *posterior*. Aliran pembuluh darah balik (vena) lambung dimulai dari *vena gastrica dextra* dan *sinistra* bermuara ke dalam vena porta. *Vena gastrica brevis* dan *vena gastro-omentalis dextra* dan *sinistra* bermuara ke dalam *vena lienalis*, yang menyatukan *vena mesenterica superior* untuk membentuk vena porta (Moore *et al.*, 2013).



Gambar 2. Perdarahan atau vaskularisasi lambung (Paulsen, 2014).

Batas-batas lambung terbagi menjadi dua, yaitu batas anterior dan batas posterior. Bagian anterior berbatasan langsung dengan arkus kosta sinistra, dinding anterior abdomen, diafragma, pleura sinistra, basis pulmo sinistra, pericardium, lobus quadratus dan lobus hepatis sinistra. Sedangkan bagian posterior lambung, berbatasan dengan omentum minus, pankreas (korpus dan kauda), arteri lienalis, diafragma, glandula suprarenalis sinistra, bagian atas ren sinistra, dan mesokolon transversum (Snell, 2012).

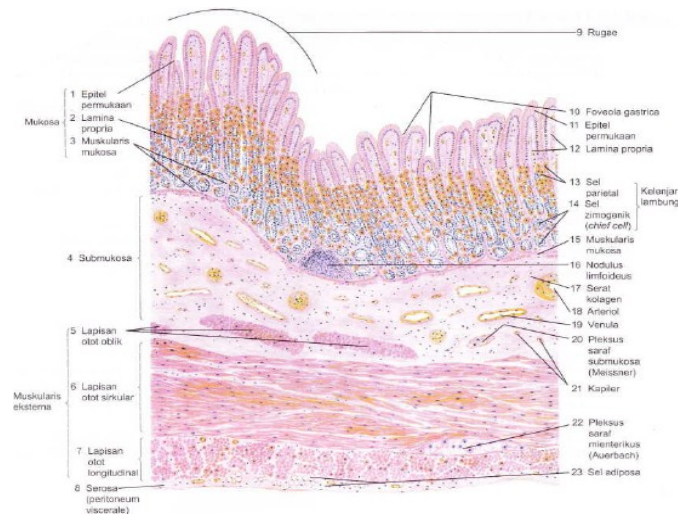
2.2.2 Histologi

Tiga bagian histologi lambung adalah kardia, fundus dan korpus (struktur fundus dan korpus identik secara mikroskopis), dan pilorus. Fundus dan korpus membentuk region yang paling luas di lambung. Dinding lambung tersusun atas empat lapisan dasar utama, sama halnya dengan lapisan saluran pencernaan pada umumnya dengan modifikasi tertentu, yaitu lapisan mukosa, submukosa, muskularis eksterna dan serosa (Tortora *et al.*, 2012; Mescher, 2015; Eroschenko, 2016).

1. Lapisan mukosa terdiri atas epitel permukaan, lamina propria, dan muskularis mukosa. Permukaan lambung dilapisi oleh epitel kolumnar selapis. Pada bagian bawah epitel terdapat jaringan ikat longgar lamina propria yang mengisi ruang antara kelenjar-kelenjar lambung. Epitel permukaan yang berlekuk ke dalam lamina propria dengan kedalaman yang bervariasi akan membentuk sumur-sumur lambung (*foveola gastrica*). Di dalam *foveola gastrica* ini terdapat

kelenjar tubular bercabang yang khas pada setiap bagian lambung (kardiak, fundus dan korpus, dan pilorus). Batas luar mukosa adalah otot polos muskularis mukosa yang terdiri dari lapisan sirkular (dalam) dan longitudinal (luar). Berkas otot polos pada muskularis mukosa ini meluas ke lamina propia antara kelenjar lambung menuju epitel permukaan (Mescher, 2015; Eroschenko, 2016).

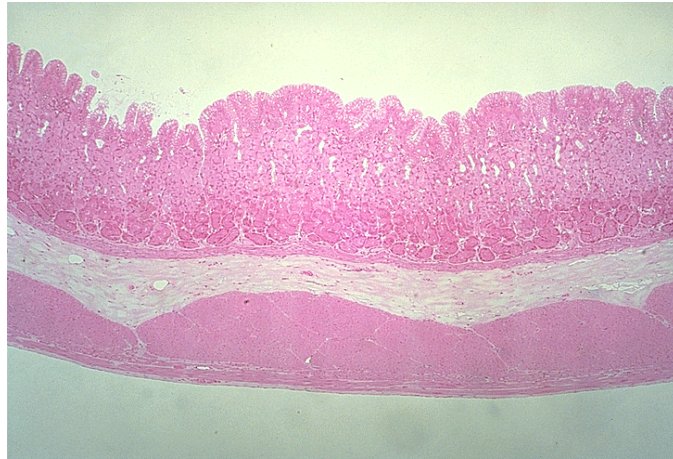
2. Lapisan submukosa terletak dibawah muskularis mukosa. Submukosa mengandung jaringan ikat padat irregular dan lebih banyak serat kolagen daripada lamina propia. Selain itu, submukosa mengandung pembuluh limfe, kapiler, arteriol besar, dan venula. Pada bagian dalam submukosa, dapat ditemukan kelompok-kelompok ganglion parasimpatis pleksus saraf submukosa (*Meissner*) (Eroschenko, 2016).
3. Lapisan muskularis eksterna terdiri atas tiga lapisan otot polos, masing-masing dengan orientasi berbeda: oblik di bagian dalam, sirkular di tengah, dan longitudinal di luar. Lapisan oblik tidak komplit dan tidak selalu terlihat dalam potongan dinding lambung, terbatas pada bagian korpus lambung. Diantara lapisan otot polos sirkular dan longitudinal terapat pleksus saraf mienterikus (*Auerbach*) (Eroschenko, 2016).
4. Lapisan serosa terdiri atas lapisan tipis jaringan ikat yang menutupi muskularis eksterna (Eroschenko, 2016).



Gambar 3. Gambaran histologi lapisan dinding lambung (Eroschenko, 2016).

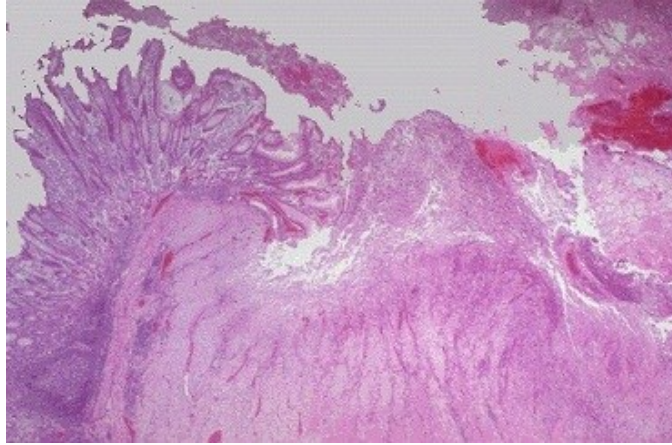
Pada bagian fundus dan korpus lambung, lamina propria mukosa dipenuhi kelenjar gastrik tubular bercabang. Setiap kelenjar memiliki bagian isthmus, leher, dan bagian dasar. Bagian isthmus mengandung sel-sel mukosa berbeda yang bermigrasi menggantikan sel-sel mukosa permukaan, sedikit sel punca yang tidak terdiferensiasi, dan sel parietal (oksintik); bagian leher terdiri atas sel-sel punca, sel leher mukosa, dan sel parietal; bagian dasar kelenjar mengandung sel parietal dan sel *zymogen*, sel-sel kelenjar lambung tersebut memiliki fungsi utama dalam lambung. Sel mukosa leher menyekresikan mukus bersifat alkali; sel parietal menyekresikan asam lambung (HCl) dan faktor intrinsik; sel *zymogen* memiliki sitoplasma yang mengandung enzim pepsinogen serta menghasilkan enzim lipase dan hormon leptin; sel enteroendokrin menyekresikan serotonin (5-hidroksitriptamin) dan berkontak dengan sel G pada lumen untuk menghasilkan polipeptida gastrin; dan terakhir sel-sel punca merupakan sel kolumnar rendah

dengan inti basal dan membelah secara asimetris, sel ini berperan untuk regenerasi sel (Mescher, 2015).



Gambar 4. Histologi normal mukosa antrum gaster perbesaran 200x (Weinseinberg, 2017)

Setiap ketidakseimbangan antara agresi dan proteksi pada lambung dapat menimbulkan perubahan histopatologi. Pada keadaan ini akan tampak gambaran histopatologis pada lambung berupa sekumpulan sel radang pada bagian mukosa lambung. Keadaan ini dapat dipicu oleh faktor stres dan faktor-faktor psikosomatik; zat-zat yang dikonsumsi seperti aspirin, obat anti inflamasi non-steroid (OAINS), dan etanol; hiperosmolaritas makanan dan minuman; dan beberapa mikroorganisme (misalnya *Helicobacter pylori*). Faktor-faktor tersebut dapat merusak lapisan epitel dan akhirnya menimbulkan ulkus (Gambar. 6). Kerusakan yang terjadi pada epitel mukosa lambung biasa ditandai dengan erosi disertai dengan bendungan perdarahan (Mescher, 2015).



Gambar 5. Gambaran histopatologi gastritis akut dengan ulkus perbesaran 200x (Weinseinberg, 2017)

2.2.3 Biokimia

Sel parietal tersebar di antara sel utama di permukaan epitel kelenjar lambung. Ketika dirangsang, sel parietal membentuk invaginasi dalam yang disebut kanalikuli di sepanjang membrane luminal (apikal) berfungsi untuk meningkatkan luas permukaan membran mengandung protein transport yang menyekresi HCl secara aktif ke dalam lumen sumur lambung. Setiap sumur menghasilkan asam ke dalam lumen lambung, yang menyebabkan pH luminal turun hingga menjadi 2 (Sherwood, 2016).

Sel parietal lambung secara aktif menyekresi H^+ dan Cl^- melalui dua kerja pompa terpisah. Ion hidrogen disekresikan kedalam lumen oleh pompa transport-aktif H^+-K^+ ATPase primer di membrane luminal sel parietal. K^+ yang dipindahkan ke dalam sel oleh pompa ini segera ke luar melalui saluran K^+ di membran luminal sehingga ion ini

mengalami daur-ulang antara sel dan lumen. H^+ yang disekresikan berasal dari penguraian H_2O menjadi H^+ dan OH^- . Proses katalis oleh karbonat anhidrase, OH^- bergabung dengan CO_2 untuk membentuk HCO_3^- . Klorida disekresikan oleh transport aktif sekunder, kemudian didorong oleh *gradient* konsentrasi HCO_3^- , antiporter $Cl^-HCO_3^-$ di membran basolateral memindahkan HCO_3^- menuruni *gradient* konsentrasinya ke dalam plasma secara bersamaan memindahkan Cl^- ke dalam sel parietal melawan *gradient* konsentrasinya. Sekresi klorida selesai ketika Cl^- yang masuk dari plasma berdifusi keluar sel menuruni *gradient* elektrokimiawi melalui saluran Cl^- di membran luminal menuju lumen lambung (Sherwood, 2016).

Asam lambung (HCl) memiliki fungsi spesifik dalam proses pencernaan. HCl mengaktifkan prekursor enzim pepsinogen menjadi enzim aktif, pepsin, dan membentuk medium asam yang optimal bagi aktivitas pepsin. HCl membantu memecahkan jaringan ikat dan serat otot, mengurangi ukuran partikel makanan besar menjadi lebih kecil. HCl menyebabkan denaturasi protein, yaitu menguraikan protein dari bentuk akhirnya sehingga ikatan peptide lebih terpajan ke enzim. Selain itu HCl bersama lisozim dapat mematikan sebagian besar mikroorganisme yang tertelan bersama makanan (Sherwood, 2016; Guyton dan Hall, 2008).

2.2.4 Fisiologi

Lambung sebagai organ pencernaan memiliki tiga fungsi utama yaitu (1) menyimpan makanan yang masuk hingga makanan dapat sampai ke usus halus dengan kecepatan yang sesuai untuk pencernaan dan penyerapan zat nutrisi yang optimal; (2) menghasilkan asam lambung (HCl) dan enzim lainnya untuk pencernaan protein lemak dan karbohidrat; (3) melalui gerakan mencampur lambung, makan yang telah dihaluskan dan dicampur dengan enzim lambung untuk menghasilkan atau membentuk *chyme* (kimus) (Sherwood, 2016).

Kapasitas lambung cukup besar, bila kosong volume lumennya hanya mencapai 50-75 ml, namun sekitar 1,2 L makanan dan minuman dapat masuk sebelum tekanan intraluminal lambung mulai naik. Volume sekret yang dihasilkan perharinya antara 500-1000 ml hanya beberapa milimeter disekresikan per jam, diantara waktu makan, namun saat mencerna makanan, ratusan mililiter dihasilkan. Sekresi asam lambung akan mempertahankan lingkungan yang optimal untuk proteolisis oleh pepsin yang aktif pada keadaan dengan pH 2 (Guyton dan Hall, 2008).

Terdapat tiga jenis sel eksokrin yang ditemukan di dinding kantung dan kelenjar oksintik mukosa lambung, yaitu:

1. Sel mukus yang menyekresikan cairan mukus bersifat alkali yang melapisi permukaan lambung.

2. Bagian yang paling dalam dilapisi oleh sel utama (*chief cell*) dan sel parietal. Sel utama menyekresikan prekursor enzim pepsinogen.
3. Sel parietal (oksintik) mengeluarkan HCl dan faktor intrinsik. Oksintik artinya tajam, yang mengacu kepada kemampuan sel ini untuk menghasilkan keadaan yang sangat asam. Semua sekresi eksokrin ini dikeluarkan ke lumen lambung dan berperan dalam membentuk getah lambung (Sherwood, 2016).

Permukaan mukosa lambung ditutupi oleh suatu lapisan mukus yang berasal dari sel epitel permukaan dan sel mukus. Mukus ini berfungsi sebagai sawar sitoprotektif terhadap beberapa bentuk cedera yang dapat mengenai mukosa lambung. Mukus melindungi mukosa lambung dari cedera mekanis karena sifat pelumasannya. Mukus membantu mencegah dinding mukosa lambung mencerna dirinya sendiri (autolisis) karena pepsin, sehingga lapisan mukus yang menutupi bagian dalam lambung akan melindungi dinding mukosa lambung. Sifat mukus yang basa dapat melindungi lambung dari cedera asam karena mukus menetralkan HCl di dekat lapisan dalam lambung, tetapi tidak mengganggu fungsi HCl di lumen. Saat pH di lumen dapat mencapai 2, pH di lapisan mukus disamping mukosa adalah sekitar 7. Mekanisme protektif sawar mukosa lambung diperkuat dengan pergantian setiap tiga hari secara keseluruhan lapisan dalam lambung. Cepatnya mekanisme pergantian ini, mencegah terjadinya aus dan kerusakan akibat lingkungan isi lambung yang keras (Sherwood, 2016).

Meskipun adanya proteksi oleh sawar mukosa lambung dan pergantian sel yang cepat, sawar mukosa lambung dapat terganggu dan dinding lambung dapat mengalami cedera. Beberapa faktor endogen dan faktor eksogen yang berbahaya dapat menyebabkan keadaan tersebut. Sebagai contoh faktor endogen adalah asam hidroklorida (HCl), pepsinogen/pepsin, dan garam empedu, sedangkan contoh substansi eksogen yang dapat menyebabkan kerusakan mukosa lambung adalah seperti obat, alkohol, zat-zat iritan dan bakteri. (Sherwood, 2016; Isselbacher *et al.*, 2015).

2.3 Efek Minuman Ringan Berkarbonasi terhadap Lambung

Meminum minuman ringan berkarbonasi bukanlah hal yang baru lagi bagi sebagian besar masyarakat. Seperti minuman pada umumnya, minuman ringan berkarbonasi diminum atau masuk ke sistem pencernaan manusia dimulai melalui ingesti oral melewati mulut faring dan esophagus sampai akhirnya masuk ke lambung. Lambung yang sering terpapar dengan zat iritan seperti kopi, obat anti inflamasi non-steroid (OAINS), alkohol, makan minuman yang bersifat asam seperti minuman ringan berkarbonasi akan mengalami iritasi akibat perangsangan sekresi asam lambung meningkat. Iritasi lambung adalah kehilangan integritas yang karakteristik dari mukosa lambung yang terbatas pada mukosa dan tidak meluas di bawah muskularis mukosa. Iritasi dapat berupa hiperemi ringan dan edema disertai sekumpulan sel radang, limfosit, makrofag, kadang-kadang *polimorfonuclear* (PMN), dan eosinofil pada lapisan permukaan dari lamina propia. Kadang-

kadang terjadi pelepasan mukosa setempat dan jarang mengenai seluruh mukosa. Peningkatan sekresi asam lambung ini juga akan merangsang penurunan dari kadar enzim siklooksigenase (COX-1), prostaglandin (PG-2), dan sitoptotektif gaster (Pahwa, 2010; Price dan Wilson, 2002; Isselbacher *et al.*, 2015).

Apabila sawar mukosa lambung mengalami kerusakan, sel epitel gaster pada bagian tersebut dapat bermigrasi untuk memperbaiki daerah yang telah rusak (*restitution*). Proses ini terjadi pada pembelahan sel secara independen dan membutuhkan aliran darah yang optimal serta pH alkali di lingkungan sekitarnya. Beberapa faktor pertumbuhan (*growth factor*) termasuk *epidermal growth factor* (EGF), *transforming growth factor* (TGF) α dan *basic fibroblast growth factor* (FGF), memodulasi proses pemulihan. Regenerasi sel epitel diregulasi oleh prostaglandin dan faktor pertumbuhan (*growth factor*) seperti EGF dan TGF α . Bersamaan dengan pembaharuan dari sel epitel, pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) juga terjadi pada kerusakan mikrovaskular. Kedua faktor yaitu FGF dan VEGF penting untuk meregulasi angiogenesis di mukosa lambung (Isselbacher *et al.*, 2015).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga Tikus Norwegia, tikus ini pertama kali berasal dari wilayah Asia yang beriklim sedang-tropis, lalu menyebar ke Eropa pada abad ke-8 dan akhirnya ke Amerika pada akhir 1700-

an. *Rattus norvegicus* mungkin adalah mamalia pertama yang dapat dijadikan sebagai hewan coba dalam penelitian eksperimental (FIU, 2017).

Rattus norvegicus adalah hewan percobaan paling populer dalam penelitian eksperimental yang berkaitan dengan pencernaan. Hewan ini dipakai dengan pertimbangan sebagai berikut: (1) pola makan segala atau omnivora seperti manusia; (2) memiliki saluran pencernaan dengan tipe monogastrik seperti manusia; (3) kebutuhan nutrisi hampir menyamai manusia; dan (4) mudah di cekok dan tidak mengalami muntah karena tikus ini tidak memiliki kantung empedu (FIU, 2017).

Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Subordo : Myomorpha
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*

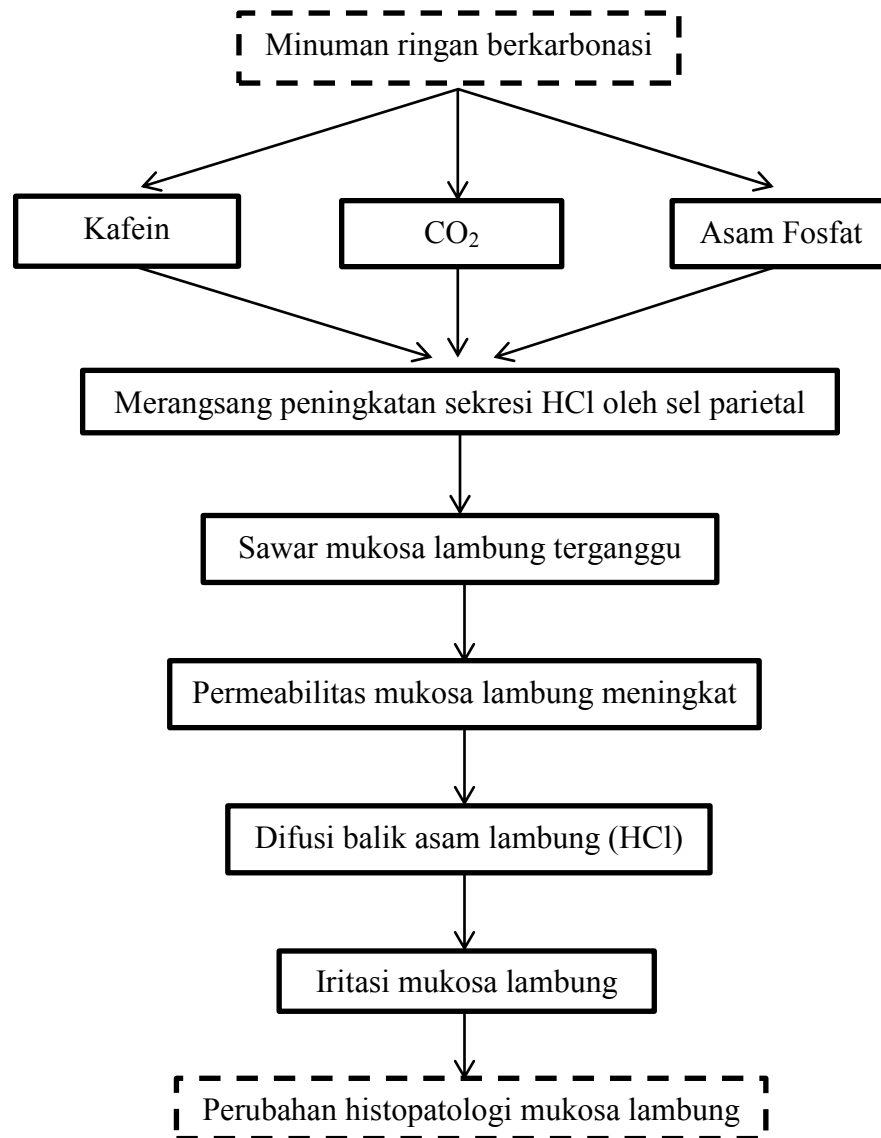


Gambar 5. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (FIU,2017).


2.5 Kerangka Teori

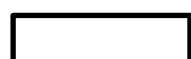
Berdasarkan tinjauan pustaka di atas, minuman ringan berkarbonasi (mengandung kafein, CO₂, dan asam fosfat) merupakan salah satu faktor eksogen yang dapat menimbulkan kerukaskan mukosa lambung dengan merangsang peningkatan sekresi asam lambung (HCl). Kandungan kafein, CO₂, dan asam fosfat dalam minuman ringan berkarbonasi akan membentuk suasana asam (pH 2-3), jika masuk kedalam lambung akan menambah suasana asam di dalam lambung dengan memicu sekresi asam lambung (HCl) yang berlebih oleh sel parietal (Price dan Wilson, 2002). Apabila hal ini terjadi terus-menerus, paparan ini akan menginduksi stres oksidatif pada mukosa lambung. Stres oksidatif mengakibatkan permeabilitas mukosa lambung akan meningkat, sehingga memudahkan terjadinya difusi-balik asam ke dalam sel. Difusi-balik asam lambung (HCl) dapat mengakibatkan timbulnya kerusakan jaringan, terutama pembuluh darah. Selain itu peningkatan sekresi asam lambung (HCl) ini juga akan merangsang penurunan kadar enzim siklooksigenase (COX-1), prostaglandin (PG-2), dan sitoprotektif gaster (Isselbacher *et al.*, 2015). *Barrier* mukosa lambung yang terganggu keseimbangannya secara terus-menerus akan mengakibatkan terjadinya iritasi pada mukosa lambung. Iritasi pada mukosa lambung bermakna secara histopatologi sebagai keadaan inflamasi dengan gambaran mikroskopis berupa hiperemi ringan dan edema disertai sebaran sel radang, limfosit, makrofag, kadang-kadang *polimorfonuclear* (PMN), dan eosinofil pada lapisan permukaan dari lamina propia. (Pahwa, 2010).

Dengan demikian, dapat dibentuk kerangka teori sebagai berikut:



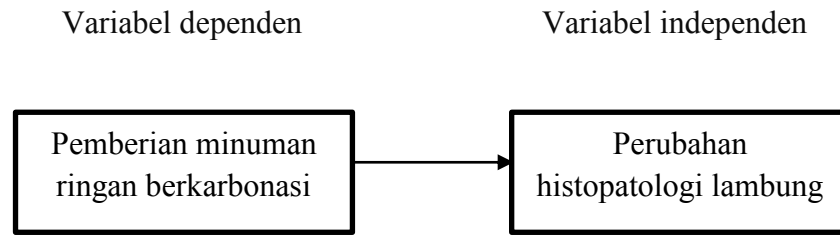
Keterangan:

 : Variabel yang diteliti

 : Variabel yang tidak diteliti

Gambar 6. Kerangka teori pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan histopatologi lambung.

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka konsep hubungan perubahan histopatologi lambung karena minuman ringan berkarbonasi.

2.7 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut:

Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan gambaran histopatologi lambung pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuasi eksperimental menggunakan *Post Only Control Group Design*. Pengambilan data dilakukan hanya pada saat akhir penelitian setelah dilakukannya perlakuan dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok yang diberi perlakuan (eksperimental) dengan kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol). Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley* (berumur 8-10 minggu) sebanyak 24 ekor yang dipilih secara acak (*simple randomization*) kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, 1 kelompok sebagai kontrol dan 3 kelompok diberikan perlakuan.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan kurang lebih selama 4 bulan (Agustus-Desember 2018). Penelitian ini dilakukan di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Hewan coba dipelihara di *Animal*

House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dari masa adaptasi, perlakuan, hingga terminasi. Sedangkan pembuatan preparat lambung (gaster) hewan coba dan pemeriksaan histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Univeritas Lampung.

3.3 Instrumen Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini diantaranya:

- a. Neraca analitik dengan kapasitas/daya baca 3000/0,1 gram
- b. Kandang tikus
- c. Botol minum tikus
- d. Tempat makan tikus
- e. APD (*handscoon*, masker)
- f. Sonde lambung
- g. Spuit
- h. Minor set
- i. Kapas alkohol
- j. *Object glass*
- k. *Cover glass*
- l. *Tissue Cassette*
- m. *Rotatory microtome*
- n. *Water bath*
- o. *Platening table*

- p. *Staining jar*
- q. *Staining rack*
- r. *Kertas saring*
- s. *Slicer* preparat
- t. *Histoplast*
- u. *Paraffin dispenser*
- v. Mikroskop cahaya berkamera
- w. Laptop

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian ini diantaranya:

- a. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley*
- b. Minuman ringan berkarbonasi
- c. Sekam untuk kandang tikus
- d. Pakan tikus
- e. Air untuk minum tikus
- f. Formaldehid 10% (metanal atau formalin)
- g. Alkohol absolut
- h. Etanol
- i. Xylol
- j. Pewarna Hematoksisilin dan Eosin (H & E)
- k. Entelan
- l. Minyak emersi

- m. Xylazin
- n. Kentamin

3.4 Subjek Penelitian

3.4.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley* berumur 8-10 minggu dengan berat antara 200-250 gram yang di peroleh dari Palembang Tikus Centre (PTC).

3.4.2 Sampel

Sampel penelitian ini adalah organ lambung (gaster) tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang telah diberi perlakuan dengan pemberian minuman ringan berkarbonasi dalam dosis dan waktu yang telah ditentukan. Besar sampel dihitung dengan metode rancangan acak lengkap (*Completely Randomized Design*) dapat menggunakan rumus Federer (1977) yaitu $t(n - 1) \geq 15$, (t) adalah jumlah kelompok pekerjaan dan (n) merupakan jumlah ulangan sampel pada setiap kelompok (Federer, 1977).

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, sehingga perhitungan jumlah sampel pada setiap kelompok sebagai berikut:

$$t(n - 1) \geq 15$$

$$4(n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Dengan demikian jumlah sampel yang digunakan pada setiap kelompok penelitian ini adalah 5 ekor tikus putih dengan jumlah 4 kelompok, sehingga penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih. Akan tetapi untuk mengantisipasi hilangnya sampel seperti kematian tikus selama penelitian, maka dilakukan koreksi dengan rumus berikut:

$$N = \frac{n}{1 - f}$$

Nilai N merupakan besarnya nilai sampel koreksi, nilai n merupakan nilai sampel awal dan f merupakan perkiraan proporsi *drop out* yaitu sebanyak 10% (Supranto, 2009).

$$N = \frac{5}{1 - 10\%}$$

$$N = \frac{5}{1 - 0,1}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,56$$

Dengan demikian total sampel yang digunakan pada tiap kelompok yaitu 6 (5,56 dibulatkan) sampel dan jumlah kelompok yang digunakan pada penelitian ini yaitu 4 kelompok. Sehingga total sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

Adapun keempat kelompok penelitian ini terdiri dari:

- A. Kelompok kontrol hanya diberikan aquades secara *ad libitum*.
- B. Kelompok yang diberi minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 3 ml/200 g/hari dengan dosis terbagi tiga dalam sehari menjadi 1ml/pemberian pada pagi jam 06.00-07.00 WIB, siang jam 12.00-13.00 WIB, dan sore jam 17.00-18.00 WIB selama 30 hari.
- C. Kelompok yang diberi minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 6 ml/200 g/hari dengan dosis terbagi tiga dalam sehari menjadi 2ml/pemberian pada pagi jam 06.00-07.00 WIB, siang

jam 12.00-13.00 WIB, dan sore jam 17.00-18.00 WIB selama 30 hari.

D. Kelompok yang diberi minuman ringan berkarbonasi dengan dosis 12 ml/200 g/hari dengan dosis terbagi tiga dalam sehari menjadi 4ml/pemberian pada pagi jam 06.00-07.00 WIB, siang jam 12.00-13.00 WIB, dan sore jam 17.00-18.00 WIB selama 30 hari.

3.4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*
- b. Sehat (tikus dengan bulu yang tidak kusam, bergerak aktif, konsumsi pakan dalam jumlah normal, tidak terdapat eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus dan genital, aktivitas dan tingkah laku normal)
- c. Usia 8-10 minggu (dewasa)
- d. Berat badan 200-250 gram

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di laboratorium
- b. Tikus mati selama penelitian dilakukan

3.5 Variabel Penelitian

Terdapat dua variabel pada penelitian ini yaitu variabel bebas (*independent variabel*) dan variabel terikat (*dependent variabel*).

3.5.1 Variabel Bebas (*Independent Variabel*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah minuman ringan berkarbonasi.

3.5.2 Variabel Terikat (*Dependent Variabel*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) dewasa jantan galur *Sprague dawley*.

3.5.3 Definisi Operasional

Adapun definisi operasional variabel penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Variabel Bebas (*Independent Variabel*)

Variabel : Pemberian minuman ringan berkarbonasi.

Definisi : Memberikan minuman ringan non-alkohol yang telah mengalami proses karbonasi dengan dosis bertingkat dengan merk Coca-Cola®.

Alat Ukur : Gelas ukur dan spuit 10cc.

Hasil Ukur :Dosis minuman ringan berkarbonasi 3ml, 6ml, dan 12ml.

Skala Ukur : Kategorik, ordinal.

2. Variabel Terikat (*Dependent variable*)

Variabel : Perubahan histopatologi lambung.

Definisi :Perubahan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley akibat pemberian minuman ringan berkarbonasi Coca-Cola®.

Alat Ukur :Mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dalam lima lapang pandang berdasarkan ada tidaknya kerusakan jaringan epitel mukosa lambung yang ditandai dengan adanya deskuamasi, celah epitel, dan erosi tiap lapang pandang kemudian dijumlahkan dan dirata-ratakan.

Hasil Ukur :Penilaian kerusakan mukosa lambung dapat diukur menggunakan sistem skor kerusakan integritas mukosa berdasarkan modifikasi kriteria Barthel Manja (Kumar *et al.*, 2013).

Skoring Kerusakan Integritas Mukosa Kriteria Bathel Manja sebagai berikut:

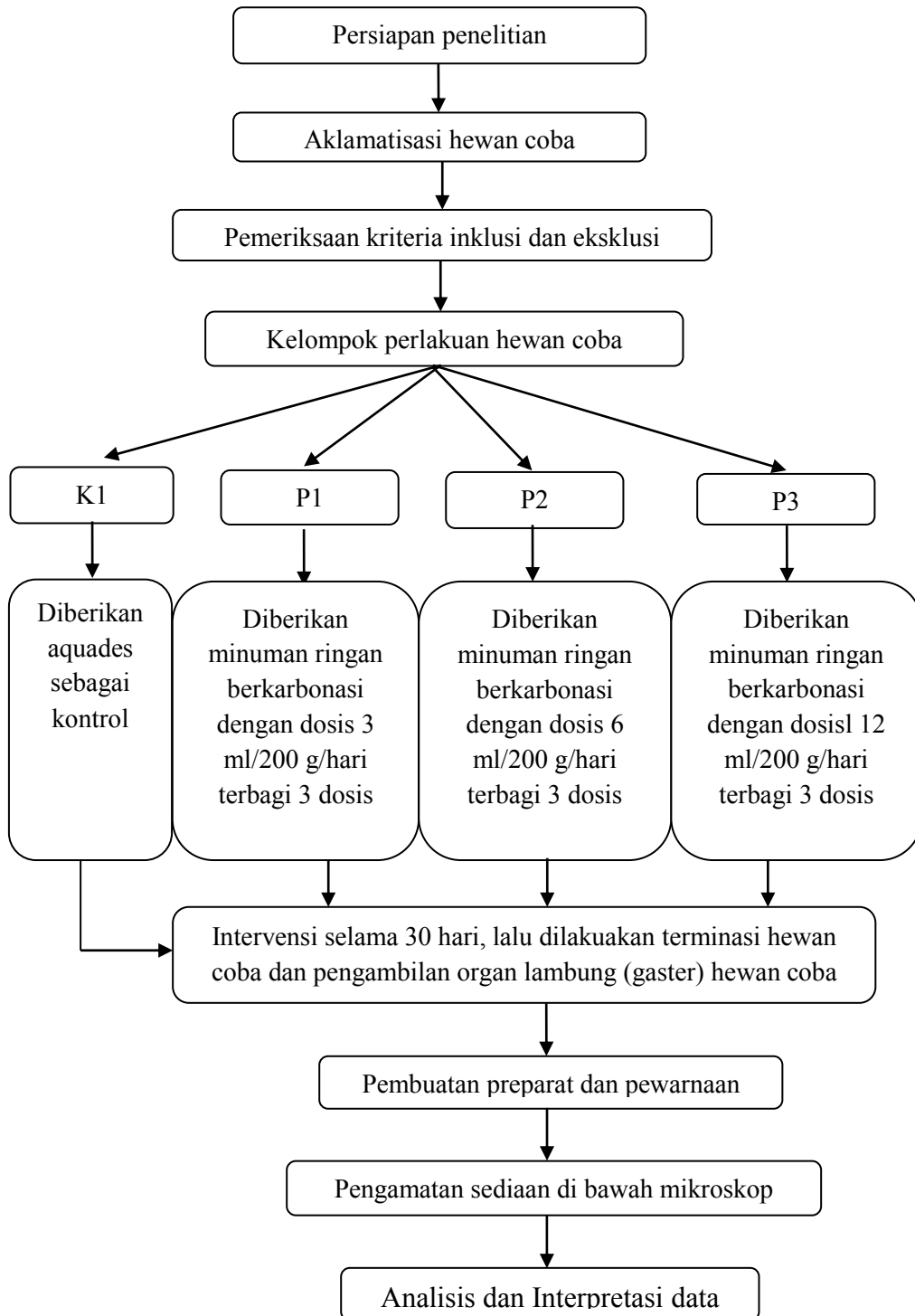
- a. Skor 0: normal, tidak ada perubahan patologis.

- b. Skor 1: terdapat deskuamasi epitel berupa kerusakan ringan epitel dengan tanpa adanya celah.
- c. Skor 2: terdapat erosi permukaan epitel berupa celah (1-10 sel epitel/lesi).
- d. Skor 3: terdapat ulserasi ditandai dengan adanya celah lebih dari 10 sel epitel/lesi dan biasanya terdapat jaringan granulasi dibawah epitel.

Skala Ukur :Numerik

3.6 Diagram Alur Penelitian

Adapun alur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Aklamatisasi Hewan Coba

Tikus yang telah diambil dari populasi di Palembang Tikus Centre (PTC) dimasukkan ke dalam 4 kandang berbeda sesuai dengan kelompok perlakuan yang berlokasi di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Tikus diadaptasikan pada lingkungan barunya selama satu minggu sebelum intervensi dilakukan. Penimbangan badan dilakukan sebelum aklamatisasi dan sebelum intervensi dimulai. Tikus diberi makanan dan minuman berupa pelet dan air. Kandang akan dibersihkan dari kotoran setiap tiga hari sekali.

3.7.2 Penentuan Dosis Minuman Ringan Berkarbonasi

Penentuan dosis minuman ringan berkarbonasi dilakukan berdasarkan dosis manusia dengan berat badan 70 kg dikoversikan pada tikus (200 g) menggunakan tabel konversi Laurence-Bacharach (1964) dengan faktor konversi 0,018. Jika dosis minuman ringan berkarbonasi dalam satu kemasan kaleng adalah 330 ml yang diperkirakan dikonsumsi manusia, dengan perkiraan berat badan tikus 200 g, maka konversi dosis minuman ringan berkarbonasi yang diberikan pada tikus adalah $0,018 \times 330 \text{ ml}/200 \text{ g/hari} = 5,94 \text{ ml}/200 \text{ g/hari}$ (dibulatkan menjadi 6 ml/200 g/hari). Volume cairan maksimal yang dapat diberikan per-oral pada tikus adalah 5 ml (Laurence dan Bacharach, 1964).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh El-Tahan dan Ahmed mengenai efek histologi dan biokimia pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley, didapat dosis 6ml/hari selama 30 hari telah menimbulkan perubahan hirtopatologi terhadap organ ginjal (El-Tahan dan Ahmed, 2015).

Berdasarkan perhitungan konversi dosis manusia terhadap tikus dan dosis pada penelitian sebelumnya yang menimbulkan perubahan histopatologi, maka peneliti menggunakan dosis 6ml/200g/hari sebagai dosis toksik, dengan penyesuaian dosis sesuai kesepakatan umum sebagai berikut:

- a. $\frac{1}{2}$ kali dari dosis toksik: $\frac{1}{2} \times 6 \text{ ml/200 g/hari} = 3 \text{ ml/200 g/hari}$
- b. 1 kali dari dosis toksik: $1 \times 6 \text{ ml/200 g/hari} = 6 \text{ ml/200 g/hari}$
- c. 2 kali dari dosis toksik: $2 \times 6 \text{ ml/200 g/hari} = 12 \text{ ml/200 g/hari}$

3.7.3 Pembuatan Preparat Histopatologi

Adapun teknik pembuatan preparat histopatologi antara lain sebagai berikut:

1. Fixation

Spesimen berupa potongan lambung yang telah dipotong secara representatif segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam lalu dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

2. *Trimming*

Organ lambung dikecilkan hingga berukuran kurang lebih 3mm, potongan tersebut kemudian dimasukan ke *tissue cassette*.

3. Dehidrasi

Meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu untuk dikeringkan.

Lalu lakukan dehidrasi dengan :

- a. Alkohol 70% selama 0,5 jam.
- b. Alkohol 96% selama 0,5 jam.
- c. Alkohol absolut selama 1 jam.
- d. Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam

4. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan *clearing* dengan *xylol* I dan II, masing–masing selama 1 jam.

5. *Impregnasi*

Lakukan Impregnasi dengan menggunakan paraffin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C.

6. *Embedding*

- a. Membersihkan sisa paraffin dengan memanaskan beberapa saat di atas api lalu diusap dengan kapas.
- b. Memasukkan paraffin cair disiapkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58° C.
- c. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.

- d. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya. Lalu pan dimasukkan ke air.
- e. Paraffin yang berisi potongan mata dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–60° C beberapa saat.
- f. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
- g. Potong dengan mikrotom

7. *Cutting*

Pemotongan dilakukan di ruangan dingin. Pertama lakukan pemotongan kasar lalu lanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron dengan menggunakan *rotary microtome*. Pilih lembaran yang paling baik, apungkan diatas air lalu hilangkan kerutannya. Lembaran jaringan kemudian dipindahkan ke *water bath* dengan suhu 60° C selama beberapa saat sampai mengembang sempurna. Lalu lembaran diambil dengan slide bersih dengan gerakan menyendok. Slide ini kemudian diletakkan di inkubator suhu 37° C sampai jaringan melekat semua kira-kira selama 24 jam.

8. *Staining* (pewarnaan) dengan Harris Hematoksilin–Eosin.

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik, selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut.

1. Dilakukan *deparaffinisasi* dalam:
 - a. Larutan *xylol* I selama 5 menit
 - b. Larutan *xylol* II selama 5 menit
 - c. Ethanol absolut selama 1 jam
2. Hidrasi dalam:
 - a. Alkohol 96% selama 2 menit
 - b. Alkohol 70% selama 2 menit
 - c. Air selama 10 menit
3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - a. Haris hematoksilin selama 15 menit
 - b. Air mengalir
 - c. Eosin selama maksimal 1 menit
4. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
 - a. Alkohol 70% selama 2 menit
 - b. Alkohol 96% selama 2 menit
 - c. Alkohol absolut 2 menit
5. Penjernihan:
 - a. *Xylol* I selama 2 menit
 - b. *Xylol* II selama 2 menit
9. *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*

Setelah proses pewarnaan, slide ditempatkan di atas kertas tisu lalu ditetesi dengan bahan mounting yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, perhatikan jangan sampai terbentuk gelembung udara.

10. Pembacaan Slide

Proses pembacaan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x dengan bimbingan dosen pembimbing dan ahli patologi anatomi.

3.8 Analisis Data

Untuk menghindari bias, analisa hasil pengamatan mikroskop akan dilakukan dengan menggunakan teknik *double blind*, dimana kedua pemeriksa tidak tahu tiap-tiap anggota kelompok perlakuan maupun kontrol sehingga diharapkan akan memperoleh hasil pemeriksaan yang objektif. Data pemeriksaan ditulis dalam formulir lalu diuji dan dianalisis dengan menggunakan program SPSS. Pertama hasil penelitian dianalisis apakah data terdistribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas. Untuk mengukur normalitas, uji yang bisa dilakukan yaitu uji *Kolmogorov-Smirnov* atau *Shapiro-Wilk*. Karena pada penelitian ini jumlah sampel ≤ 50 maka uji yang dilakukan adalah uji *Shapiro-Wilk*. Setelah uji normalitas data, dan didapatkan data terdistribusi normal, untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varian yang sama atau tidak maka dilakukan uji Levene. Apabila didapatkan data yang terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one way* ANOVA. Namun bila tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji parametrik, pengujian akan menggunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*, hipotesis dapat dikatakan diterima ketika nilai $p < 0,05$. Selanjutnya dilakukan analisis *post-hoc* (*Mann-Whitney* untuk *Kruskal-Wallis*

atau LSD untuk *one way* ANOVA) dengan tujuan melihat perbedaan antar kelompok perlakuan (Dahlan MS, 2014).

3.9 Ethical Clearance

Penelitian ini menggunakan hewan coba sebagai subyek penelitian, oleh karena itu harus memperhatikan prinsip 3R yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement*. Peneliti juga sebaiknya senantiasa memperhatikan kesejahteraan hewan coba dan berusaha untuk selalu memperlakukan hewan coba secara manusiawi. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK Unila dengan nomer surat 3382/UN26.18/PP.05.02.00/2018 pada tanggal 14 September 2018.

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Terdapat pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap perubahan histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

5.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya diharapkan peneliti lain dapat lebih memperhatikan lingkungan tempat adaptasi dan perlakuan hewan coba.
2. Pada penelitian selanjutnya diharapkan peneliti lain dapat menggunakan peralatan penelitian yang lebih baik lagi dan lebih bijak dalam penggunaannya agar mengurangi trauma mekanik pada hewan coba.
3. Pada penelitian selanjutnya diharapkan dapat melihat pengaruh minuman ringan berkarbonasi pada organ lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjene JO, Ezeoke JC, Nwose EU. 2010. Histological effect of chronic consumption of soda pop drinks on kidney of adult wistar rats. *N Am J Med Sci.* 2(5): 215-7.
- Albab MU. 2011. Pengaruh minuman berkarbonasi terhadap mukosa lambung tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar). [Skripsi]. Malang: UMM.
- Alkhedaide A, Soliman MM, Eddin AES, Ismail TA, Alshehri ZS, Attia HF. 2016. Chronic effect of soft drink consumption on the health state of wistar rats: a biochemical, genetic, and histopatological study. *Molecular medicine reports.* 13(1): 5109-17.
- Australian Beverages Council. 2016. Inquiry into childhood overweight and obesity. [diunduh 12 Desember 2017]. Tersedia dari: www.parliament.nsw.gov.au.
- British Soft Drink Association. 2017. Soft drink ingredient. [diunduh 12 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.britishsoftdrinks.com>.
- Carmiel HM, Cederbaum AI, Nieto N. 2013. Binge etanol exposure increases liver injury in obese rats. *Gastroenterology.* 125(6): 1818-33.
- Coca-Cola Company. 2017. Soft drink . [diunduh 12 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.coca-colacompany.com>.
- Corwin EJ. 2009. Patofisiologi. Jakarta: EGC.

- Dahlan MS. 2014. Statistik untuk kedokteran dan kesehatan. Seri ke-1. Edisi ke-6. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Das S, Rajput S. 2013. Toxic level of soft drinks and sports drink on health status. IJAPBC 2 (4): 591-4.
- Eroschenko VR. 2016. Atlas of Histology with functional correlations. Edisi ke-12. Moscow: Sans Tache.
- El-Tahan NR, Ahmed RA. 2015. Histological and biological effects of soft drinks on male albino rats. JBAAR. 1(6): 335-42.
- Federer WT. 1977. Experimental design theory and application. Edisi ke-3. New Delhi : Oxford dan IBH Publishing Co.
- FIU. 2017. Sprague dawley rats. [diunduh 04 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.research.fiu.edu>.
- Guyton AC, Hall JE. 2008. Textbook of medical physiology. Edisi ke-11. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. 2015. Harrison's principles of internal medicine, Edisi ke-13. New York: McGraw-Hill.
- Johnson S, Saikia N, Kumar A. 2006. CSE Report : Analysis pesticide reduces in soft drink. Center for Science and Environment: New Delhi. [diunduh 14 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.indiaenvironmentportal.org.in>.
- Johnson T, Gerson L, Hershcovici T, Stave C, Fass R. 2010. Systematic review: the effect of carbonated beverage on gastro-oesophageal reflux disease. 31(6): 607-14.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. 2013. Robbins basic pathology. Edisi ke-9. Singapore: Elsevier Inc.

- Laurence, Bacharach. 1964. Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Mescher AL. 2015. Junqueira's basic histology: text and atlas. Edisi ke-14. The McGraw-Hill Company Inc.
- Mitchell RN, Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. 2009. Robbin basic of disease. Edisi ke-9. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Moore KL, Dalley FDII, Agur AMR. 2013. Edisi ke-7. Clinically oriented anatomy. Philadelphia: Lipincott William & Wilkins.
- Nusaresearch. 2014. Report of soft drink consumption habits in Indonesia. [diunduh 12 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.nusaresearch.com>.
- Nutritiondata. 2014. Carbonated beverage, cola, contains caffeine [pop, soda, soft drink] nutrition facts & calories. [diunduh 14 Desember 2017]. Tersedia dari: nutritiondata.self.com.
- Pahwa R, Kumar V, Kohli K. 2010. Clinical manifestasions, cause and management strategies of peptic ulcer disease. IJPSDR. 2(2): 99-106.
- Pancardo DCT, Sandoval JR, Mota MMV. 2012. Identification of life habits factors as risk for gastritis and colitis occurrence in a mestizo population of chabeklumil, Chiapas, mexico. OJN. 2(1): 67-71.
- Paulsen F, Waschke J. 2014. Sobotta, atlas der anatome des menschen. Edisi ke-23. Munich: Elsevier GmbH.
- Price SA, Wilson LM. 2002. Pathophysiology: clinical concepts of disease processes. Edisi ke-6. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Ramstad, Gunawar AW. 2010. Soft drinks and their effects on health. [thesis]. Prague: Charles University.

- Riskesdas. 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI. [diunduh 04 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id>.
- Sherwood L. 2016. Human physiology: from cells to systems. Edisi ke-8. USA: Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Snell RS. 2012. Clinical anatomy by regions. Edisi ke-9. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Schmitz PG, Martin KJ. 2008. Internal medicine: just the facts. Singapore: The McGraw-Hill Companies.
- Supranto J. 2009. Statistik teori dan aplikasi. Edisi ke-7. Jakarta: Erlangga.
- Tortora G, Derrickson B. 2012. Principles of anatomy & physiology. Edisi ke-13. Philadelphia: John Wiley & Sons Inc.
- Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD. 2007. Effect of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis. *A M JPublic Health*. 97(4): 667-75.
- Weinseinberg E. 2017. Normal histology - Antrum. [diunduh 04 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.pathologyoutlines.com>.
- Weinseinberg E. 2017. Acute gastritis.. [diunduh 04 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.pathologyoutlines.com>.
- Weinseinberg E. 2017. Acute gastric ulcer. [diunduh 04 Desember 2017]. Tersedia dari: <http://www.pathologyoutlines.com>.
- Xavier R, Sreeramanan S, Diwakar A, Sivagnanam G, Sethuraman KR. 2007. Soft drinks and hard facts: a health perspective. *ASEAN Food Journal* 14(2): 69-81.