

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata Linn*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GASTER TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI METANIL YELLOW

(Skripsi)

Oleh :

ARDILA PUTRI MAHARANI



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRACT

THE EFFECT OF GIVING CIRCULAR LEAF (*Annona muricata* Linn) ETHANOL EXTRACT ON THE HISTOPATOLOGICAL DESCRIPTION OF WHITE RAT GASTER (*Rattus norvegicus*) MALE *Sprague dawley* STAIN INDUCED BY METHANIL YELLOW

By

ARDILA PUTRI MAHARANI

Background : Methanil yellow can cause tissue damage through oxidative stress mechanism. Soursop leaves contain flavonoids which have antioxidant effects to prevent gastric mucosal damage. This study aimed to determine the effect of giving circular leaf (*Annona muricata* Linn) ethanol extract on the histopathological description of white rat gaster (*Rattus norvegicus*) male *sprague dawley* stain induced by methanil yellow.

Methods : This study is a Post test Control Group Design pattern using 25 rats which were divided into 5 groups with treatment for 30 days. Group K- was given 2 ml of distilled water. The K+ group was given methanyl yellow 3000 mg/kgBW/day. Group P1 was given methanil yellow 3000 mg/kgBW/day and ethanol extract of soursop leaves 100 mg/kgBW/day. Group P2 was given methanil yellow 3000 mg/kgBW/day and ethanol extract of soursop leaves 200 mg/kgBW/day. Group P3 was given methanil yellow 3000 mg/kgBW/day and ethanol extract of soursop leaves 400 mg/kgBW/day. Observations were made using a microscope by looking at the degree of gastric damage.

Results : The results of the average degree of gastric damage of rats at K- = 0.44 ± 0.18 m; K+ = 1.8 ± 2.5 m; P1 = 1.36 ± 0.20 m; P2 = 1.08 ± 0.18 m; and P3 = 0.76 ± 0.26 m. This study used the One Way ANOVA parametric test ($p < 0.05$) and continued with the Post Hoc LSD test ($p < 0.05$). There were significant differences in all groups.

Conclusions : There was an improvement in the administration of ethanolic extract of soursop (*Annona muricata* Linn) leaves to the gastric histopathological picture of male white rat (*Rattus norvegicus*) *sprague dawley* strain due to administration of methanyl yellow.

Keywords : Circular leaf, Gaster, Methanil Yellow

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GASTER TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI METANIL YELLOW

Oleh

ARDILA PUTRI MAHARANI

Latar Belakang : *Metanil yellow* dapat menyebabkan kerusakan jaringan melalui mekanisme stress oksidatif. Daun sirsak memiliki kandungan flavonoid yang memiliki efek antioksidan untuk mencegah kerusakan mukosa lambung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap gambaran histopatologi gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *sprague dawley* yang diinduksi *metanil yellow*.

Metode : Penelitian ini merupakan pola *Post test Control Group Design* menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan perlakuan selama 30 hari. Kelompok K- diberi aquades 2 ml. Kelompok K+ diberi *metanil yellow* 3000 mg/kgBB/hari. Kelompok P1 diberi *metanil yellow* 3000 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun sirsak 100 mg/kgBB/hari. Kelompok P2 diberi *metanil yellow* 3000 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun sirsak 200 mg/kgBB/hari. Kelompok P3 diberi *metanil yellow* 3000 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun sirsak 400 mg/kgBB/hari. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan melihat derajat kerusakan gaster.

Hasil : Hasil rerata derajat kerusakan gaster tikus pada K- = $0,44 \pm 0,18 \mu\text{m}$; K+ = $1,8 \pm 2,5 \mu\text{m}$; P1 = $1,36 \pm 0,20 \mu\text{m}$; P2 = $1,08 \pm 0,18 \mu\text{m}$; dan P3 = $0,76 \pm 0,26 \mu\text{m}$. Penelitian ini menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* ($p < 0,05$) dan dilanjutkan uji *Post Hoc LSD* ($p < 0,05$) didapatkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok.

Kesimpulan : Terdapat perbaikan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap gambaran histopatologi gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *sprague dawley* akibat pemberian *metanil yellow*.

Kata Kunci : Gaster, *Metanil Yellow*, Daun Sirsak

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata Linn*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GASTER TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI METANIL YELLOW

Oleh:
ARDILA PUTRI MAHARANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GASTER TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sparague dawley* YANG DIINDUKSI METANIL YELLOW**

Nama Mahasiswa : ARDILA PUTRI MAHARANI

No. Pokok Mahasiswa : 1718011132

Program Studi : PENDIDIKAN DOKTER


Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN



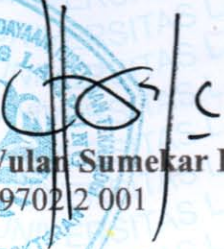
Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA
NIP. 19790128 200604 2 001


dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA
NIP. 19790701 200812 1 003

2. Dekan Fakultas Kedokteran


Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar RW, SKM., M.Kes
NIP. 19720628 199702 2 001



MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

**Ketua : Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked.,
Sp.PA**



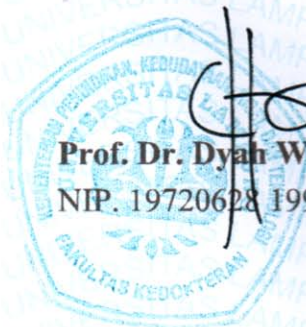
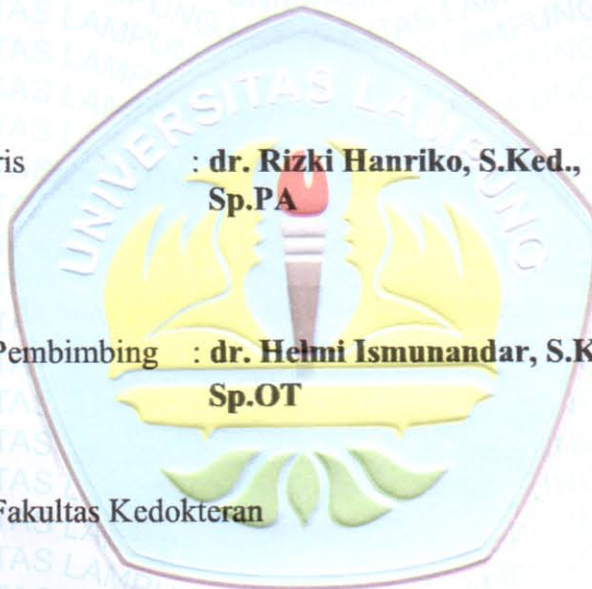
**Sekretaris : dr. Rizki Hanriko, S.Ked.,
Sp.PA**



**Penguji
Bukan Pembimbing : dr. Helmi Ismunandar, S.Ked.,
Sp.OT**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Dyan Wulan-Sumekar RW, S.KM., M. Kes
NIP. 19720628 199702 2 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Juli 2021

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* Linn) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GASTER TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN GALUR *Sprague Dawley* YANG DIINDUKSI METANIL YELLOW”** adalah hasil karya saya 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 atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

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

Bandar Lampung, 26 Juli 2021

Pembuat Pernyataan



Ardila Putri Maharani

*Segala Puji Bagi Allah SWT, Tuhan Semesta
Alam Yang Maha Pengasih Lagi Maha
Penyayang*

*Sebuah Karya Sederhana ini Dila
persembahkan Kepada Bapak, Ibu, Adik dan
Keluarga Besarku serta sahabat-sahabat
tercinta*

حَسْبُنَا اللَّهُ وَنِعْمَ الْوَكِيلُ

“Cukuplah Allah (menjadi penolong) bagi kami dan Dia sebaik-
baik pelindung.” (QS. Ali-Imran: 173)

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Adi Jaya pada tanggal 16 Mei 1999, sebagai anak pertama dari Bapak Edi Kusnadi dan Ibu Gawang Sejati. Penulis memiliki satu orang adik perempuan bernama Tissa Nabila Ghasanny Putri.

Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 5 Lempuyang Bandar, Way Pengubuan, Lampung Tengah pada Tahun 2011, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMP Negeri 3 Way Pengubuan, Lampung Tengah pada tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMA YP Unila Bandar Lampung pada tahun 2016.

Pada tahun 2017, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa kedokteran, penulis aktif di Lembaga Kemahasiswaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) pada tahun 2017-2020. Penulis pernah menjadi Staff Ahli Dinas Pengabdian Masyarakat BEM FK UNILA tahun 2018/2019 dan 2019/2020. Penulis juga pernah menjadi Bendahara Umum Diesnatalis FK Unila ke-16.

SANWACANA

Alhamdulillah rabbi'l'alamin, Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, Tuhan Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas rahmat dan karunia-Nya yang telah memberikan segala kenikmatan, kemudahan, kekuatan dan kesabaran. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW sehingga skripsi dengan judul "*Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata Linn) Terhadap Gambaran Histopatologi Gaster Yang Diinduksi Metanil Yellow*" dapat terselesaikan oleh penulis.

Selama proses penulisan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan, saran, dorongan, bimbingan, dan kritik dari berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada para pimpinan universitas dan fakultas, yaitu:

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si selaku Rektor Universitas Lampung,
2. Ibu Prof. Dr. Dyah Wulan Sumekar SRW, S.KM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung
3. dr. Dian Isti Angraini, S.Ked., M.PH selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama 7 semester proses pembelajaran di masa pre-klinik.

4. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA selaku Pembimbing I skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta selalu memberi semangat dan dukungan untuk tidak pernah putus asa. Terimakasih atas bimbingan, arahan, saran serta masukan yang sangat membantu dalam proses penyusunan skripsi ini.
5. dr. Rizki Hanriko, S.Ked., Sp.PA selaku Pembimbing II skripsi yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran serta selalu memberi semangat dan dukungan untuk tidak pernah putus asa. Terimakasih atas bimbingan, arahan, serta masukan yang sangat membantu dalam proses penyusunan skripsi ini.
6. Alm. Prof. Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA selaku Pembahas yang telah memberikan banyak saran, pembelajaran dan nasihat agar penulis menjadi pribadi yang lebih baik serta bersedia meluangkan waktu untuk membina dan memberikan masukan yang baik untuk penulis, semoga kebaikan prof selama ini menjadi ladang pahala di surga Allah SWT.
7. dr. Helmi Ismunandar, S.Ked., Sp.OT selaku Pembahas yang telah memberikan banyak saran, pembelajaran dan nasihat agar penulis menjadi pribadi yang lebih baik serta bersedia meluangkan waktu untuk membina dan memberikan masukan yang baik untuk penulis.
8. Seluruh Staff Akademik, Karyawan dan Dosen Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan pengalaman untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita.

9. Mas Bayu Putra Danan Jaya, A.Md yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, dan nasihat selama proses penelitian.
10. Ibu Nuriah, A.Md, yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, dan nasihat selama proses penelitian.
11. Kyai Dimas, Kyai Dira, Kyai Agung dan Kyai Dita yang telah banyak membantu penulis selama proses bimbingan sampai dengan selesai.
12. Bapak dan Ibu tercinta : Bapak Edi Kusnadi dan Ibu Gawang Sejati yang telah membesarkan penulis, yang selalu menyebut nama penulis dalam doanya, membimbing, mendukung, memberikan yang terbaik dan selalu bersikap sabar dalam menuntun penulis untuk meraih keberhasilan. Terima kasih karena tidak pernah menyerah dalam membesarkan dan mendidik penulis agar menjadi anak yang berbakti, serta telah menjadi inspirasi dan motivasi terbesar penulis. Selain itu Adik Tissa Nabila Ghasanny Putri terimakasih untuk setiap semangat, motivasi dan doanya serta selalu menemani penulis dikala suka maupun duka.
13. Keluarga Julid : Afidatul Umroh, Anisa Adelia, Dima Fitri Hayuningrum, Rara Julia Timbara Harahap dan Trixie Almira yang selalu membantu, mendoakan, mendukung, memotivasi, menemani dan mendengarkan semua cerita dan keluh kesah selama proses perkuliahan dan proses penyelesaian skripsi.
14. Sahabat kecilku : Briantomo Dwi Bhaskara, Arif Marzuki, Ikke Fitriana, Rizki Azharia, Tria Nur Adha Dhiyani, Ghevara Anisya Rifsanzani, dan Diah Balqis Ikfi Hidayati yang selalu mendengarkan keluh kesah penulis selama masa perkuliahan dan proses penyelesaian skripsi.

15. Teman-teman satu penelitian : Cassa Victoria Regia Divandra, Ni Made Indah Ayuni dan Yovani Rehuel Br Sitepu, terima kasih banyak atas kekompakan, kebersamaan, bantuan, dan dukungan selama penelitian dan dalam menyelesaikan skripsi ini, semoga penelitian yang dilakukan dapat bermanfaat bagi masyarakat.
16. Teman-teman seperjuangan: Khairunnisa Athira Nauli Siregar, Rana Salsabila Putri Laja dan Elmarossa Dinda Sephia, terima kasih atas bantuan, kebersamaan, dukungan, semangat dan motivasi selama perkuliahan dan dalam menyelesaikan skripsi ini.
17. Teman-teman KKN periode 1 tahun 2020 Desa Putih Doh, Kecamatan Cukuh Balak, Kabupaten Tanggamus : M. Aswin Habibullah, Erlangga Satria Agung, Ria Dwi Saputri, Nadia Istiqomah, Wahyu Nurwidayati, dan Yulia Merti, terimakasih telah berjuang bersama-sama dalam proses pembelajaran dan kekeluargaan.
18. Teman-teman Angkatan 2017 (V17REOUS) Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah berjuang sejak 3 tahun yang lalu, terimakasih atas kebersamaannya selama ini, bantuan serta dukungan selama proses perkuliahan dalam melewati tahun-tahun sulit bersama, kakak-kakak Angkatan 2015 dan 2016 serta adik-adik Angkatan 2018, 2019 dan 2020 yang telah memberikan dukungan dan doa-doanya semoga kelak dapat menjadi dokter yang professional.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini memiliki banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun demi perbaikan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembacanya.

Bandar Lampung,

Penulis

Ardila Putri Maharani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Bagi Peneliti	7
1.4.2 Bagi Institusi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung	7
1.4.3 Bagi Masyarakat	8
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Gaster	9
2.1.1 Anatomi Gaster.....	9
2.1.2 Fisiologi Gaster	11
2.1.3 Histologi Gaster.....	15
2.1.4 Patologi Gaster	19
2.2 <i>Metanil Yellow</i>	23
2.2.1 Definisi <i>Metanil Yellow</i>	23
2.2.2 Efek <i>Metanil Yellow</i> Terhadap Gaster.....	25
2.3 Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	27
2.3.1 Deskripsi Umum.....	27
2.3.2 Kandungan Senyawa Kimia	29
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	32
2.5 Kerangka Teori.....	34
2.6 Kerangka Konsep	38
2.7 Hipotesis	38
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	39
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	39

3.2.1 Tempat Penelitian.....	39
3.2.2 Waktu Penelitian	40
3.3 Populasi dan Sampel	40
3.3.1 Populasi	40
3.3.2 Sampel	40
3.3.3 Kelompok Perlakuan	42
3.3.4 Kriteria Inklusi	43
3.3.5 Kelompok Eksklusi	43
3.3.6 Cara Pengembalian Sampel.....	44
3.4 Bahan dan Alat Penelitian	44
3.4.1 Bahan Penelitian.....	44
3.4.2 Bahan Pembuatan Ekstrak.....	44
3.4.3 Bahan Pembuatan Preparat.....	44
3.4.4 Alat Penelitian	45
3.4.5 Alat Pembuatan Ekstrak	45
3.4.6 Alat Pembuatan Preparat	46
3.5 Prosedur Penelitian.....	47
3.5.1 Adaptasi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	47
3.5.2 Pemberian <i>Metanil Yellow</i>	47
3.5.3 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak.....	47
3.5.4 Alur Penelitian.....	48
3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel	54
3.6.1 Indetifikasi Variabel	54
3.6.2 Definisi Operasional Variabel	54
3.7 Analisis Data	55
3.8 <i>Ethical Clearance</i>	55

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian.....	56
4.1.1 Gambaran Histopatologi Gaster Tikus	56
4.1.2 Analisis Histopatologi Kerusakan Gaster.....	58
4.2 Pembahasan	62
4.3 Keterbatasan Penelitian	66

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	67
5.2 Saran.....	67

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 Struktur Kimia <i>Metanil Yellow</i>	25
2 Komponen Senyawa pada Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	31
3 Taksonomi Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	33
4 Sifat Biologis Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	33
5 Definisi Operasional.....	54
6 Skor Derajat Kerusakan Gaster	59
7 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro Wilk</i>	61
8 Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i>	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1 Anatomi Gaster	11
2 Histologi Gaster	18
3 Struktur Kimia <i>Metanil Yellow</i>	24
4 Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn)	29
5 Kerangka Teori.....	37
6 Kerangka Konsep	38
7 Alur Penelitian	53
8 Gambaran Histopatologi Gaster	57

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bahan pangan adalah bahan yang dibutuhkan oleh manusia untuk tumbuh dan berkembang serta mampu beraktifitas dan memelihara kondisi tubuh. Dalam memilih bahan makanan maka kita perlu memperhatikan kebersihan dan mutunya agar aman untuk dikonsumsi. Makanan umumnya tersusun atas air, protein, karbohidrat, lemak, vitamin, serat dan mineral. Komponen tersebut berperan penting dalam memberikan karakter terhadap makanan baik sifat fisik, kimia, maupun fungsinya. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi dalam bidang pangan maka berbagai jenis makanan dapat dibuat lebih awet, menarik, dan lebih aman untuk dikonsumsi oleh para konsumen (Egha, 2014). Bahan pangan pada umumnya terdiri atas zat-zat kimia, baik yang terbentuk secara alami ataupun secara sintetis, dalam berbagai bentuk kombinasi dan yang berperan penting bagi kehidupan, seperti halnya air dan oksigen. Jumlah komponen-komponen tersebut berbeda-beda pada masing-masing bahan pangan, tergantung pada susunan, kekerasan atau tekstur, cita rasa, warna dan nilai makanannya (Koeswardhani, 2020).

Bahan tambahan pangan adalah campuran bahan yang secara alami bukan merupakan bagian dari bahan baku pangan, tetapi lebih kepada sesuatu yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan, antara lain bahan pewarna, pengawet, penyedap rasa, anti gumpal, pemucat dan pengental (Ardiansyah, 2015). Pada Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/88 dijelaskan bahwa bahan tambahan pangan adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan *ingredient* khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk maksud teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan atau pengangkutan makanan untuk menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat khas makanan tersebut (Cahyadi, 2019).

Pewarna makanan merupakan salah satu bahan tambahan pangan (BTP) yang sering digunakan dalam berbagai jenis makanan dan minuman olahan. Warna merupakan salah satu sifat yang penting dari makanan, di samping juga nilai gizi, cita rasa, dan tekstur yang baik. Penambahan zat warna dalam makanan dan minuman mempunyai pengaruh yang sangat besar terhadap selera dan daya tarik konsumen dalam memilih suatu produk. Pewarna *non food grade* seperti pewarna tekstil sekarang ini banyak digunakan oleh produsen nakal untuk memberikan warna produk makanan mereka. Salah satu contoh bahan pewarna tekstil yang sering disalahgunakan produsen makanan dan perlu diwaspadai oleh konsumen adalah *metanil yellow* (Kemenkes, 2012). Pewarna makanan merupakan bahan tambahan pangan yang dapat

memperbaiki penampilan makanan agar menarik, serta menutupi perubahan warna akibat proses pengolahan dan penyimpanan (Cahyadi, 2019).

Pewarna sintetis merupakan zat warna yang dibuat melalui perlakuan pemberian asam sulfat atau asam nitrat yang sering terkontaminasi oleh arsen atau logam berat lain yang bersifat racun. Sebelum mencapai produk akhir, pembuatan zat pewarna organik harus melalui senyawa antara yang cukup berbahaya dan senyawa tersebut sering tertinggal dalam produk akhir atau terbentuk senyawa-senyawa baru yang berbahaya (Cahyadi, 2019). Pewarna makanan sintetis yang diperbolehkan untuk pangan antara lain tartrazin, kuning kuinolin, karmoisin, eritrosin, biru berlian FCF, hijau FCF, dan coklat HT. Salah satu bahan kimia terlarang yang masih sering dijumpai pada pangan adalah pewarna *metanil yellow*. Pewarna ini umumnya digunakan sebagai pewarna pada tekstil, kertas, tinta, plastik, kulit, dan cat, serta sebagai indikator asam-basa di laboratorium. Namun pada prakteknya, di Indonesia pewarna ini sering disalahgunakan untuk mewarnai berbagai jenis pangan antara lain kerupuk, mie, tahu, dan pangan jajanan yang berwarna kuning, seperti gorengan. Berdasarkan struktur kimianya, *metanil yellow* dan beberapa pewarna sintetis dikategorikan dalam golongan azo. Namun, *metanil yellow* termasuk pewarna golongan azo yang telah dilarang digunakan pada pangan (BPOM, 2012).

Perilaku pedagang makanan yang menggunakan *metanil yellow* sebagai pewarna makanan dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu harga *metanil yellow* lebih murah dibandingkan pewarna makanan, mudahnya mendapatkan *metanil yellow*, rendahnya pengetahuan pedagang makanan mengenai bahaya

metanil yellow jika dikonsumsi, serta pengawasan BPOM terhadap penjualan makanan kurang ketat dan tidak berkala (Zuraida *et.al.*, 2017).

Metanil yellow adalah pewarna sintetis yang digunakan pada industri tekstil dan cat berbentuk serbuk serbuk atau padat berwarna kuning kecoklatan. Pewarna kuning *metanil yellow* sangat berbahaya jika terhirup, mengenai kulit, mengenai mata, dan tertelan. *Metanil yellow* merupakan zat pewarna sintetis yang dilarang untuk produk makanan karena dalam bahan tersebut mengandung residu logam berat yang sangat membahayakan. Paparan kronik *metanil yellow* pada manusia bersifat iritan sehingga dapat menyebabkan kerusakan mukosa lambung, iritasi saluran cerna. Selain itu, *metanil yellow* dapat menyebabkan mual, muntah, sakit perut, diare, demam, lemah, dan hipotensi. (BPOM, 2014).

Metanil yellow juga dapat bertindak sebagai *tumor promoting agent*. Pada penelitian mengenai paparan kronik *metanil yellow* terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan selama 30 hari, diperoleh hasil bahwa terdapat perubahan histopatologi dan ultrastruktural pada lambung, usus, hati, dan ginjal (Sarkar and Gosh, 2012).

Pada gaster, kerusakan yang diakibatkan oleh paparan *metanil yellow* berupa gambaran lesi histopatologis berupa disrupsi dari lipatan mukosa lambung, degenerasi epitel gaster disertai hipersekresi mukus. Selain itu, didapatkan juga nekrosis pada sel-sel epitel kolumnar dan erosi pada kelenjar gastrika. Kerusakan gaster yang ditimbulkan oleh paparan zat toksik secara terus-menerus dapat berupa kerusakan mukosa lambung gastritis dan tukak peptik

(Anjasmara *et.al.*, 2017). Gambaran histopatologi yang dapat dijumpai perubahan-perubahan yang terjadi berupa degradasi epitel, hiperplasia foveolar, infiltrasi netrofil, inflamasi sel mononuklear, folikel limfoid, atropi, metaplasia intestinal, hiperplasia sel endokrin, kerusakan sel parietal (Sudoyo *et.al.*, 2014).

Metanil yellow dapat langsung masuk ke dalam sistem pencernaan ketika individu mengkonsumsi makanan yang terpapar zat pewarna azo tersebut. *Metanil yellow* dapat menimbulkan gastrotoksisitas, hepatotoksisitas, dan merusak usus. *Metanil yellow* yang dicerna oleh tubuh akan mengganggu sistem antioksidan alami yang dimiliki tubuh dan memicu pembentukan radikal bebas (Cahyadi, 2019).

Metanil yellow dapat menyebabkan kerusakan jaringan melalui mekanisme stres oksidatif. Pada penelitian yang menggunakan ikan (*Heteropneustes fossilis*) sebagai objek penelitian didapatkan bahwa paparan *metanil yellow* menyebabkan kerusakan lipatan gaster, menghancurkan sel-sel epitel, hilangnya *microridge* dari membran plasma apikal, dan fragmentasi. *Metanil yellow* juga menyebabkan erosi dan degenerasi pada kelenjar gastrika (Sarkar and Ghosh, 2017)

Tanaman sirsak banyak mengandung senyawa aktif yang penting bagi kesehatan baik penyembuhan maupun pencegahan penyakit. Salah satu bagian dari tanaman sirsak tersebut terdapat dalam daunnya. *Annonaceous asetogenins* merupakan kandungan penting dalam tanaman sirsak yang mengandung senyawa flavonoid yang memiliki efek antioksidan dan

antiinflamasi yang dapat mencegah kerusakan mukosa lambung akibat radikal bebas. Senyawa ini berperan penting sebagai antioksidan dan antiinflamasi terhadap sel-sel abnormal pada tubuh (Li K *et. al.*, 2018). Selain kandungan asetogenin yang bersifat antioksidan, juga terdapat kandungan senyawa flavonoid. Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Flavonoid merupakan sekelompok besar antioksidan dan juga antiinflamasi bernama polifenol yang terdiri atas antosianidin, biflavon, katekin, flavanon, flavon dan flavanolol (Am Zuhud, 2011).

Kandungan pada tanaman *Annona muricata* Linn diantaranya adalah alkaloid, flavonol triglikosida, megastigmane, fenolik, siklopeptida, dan asetogenin (Zakiah *et.al.*, 2017). Senyawa golongan flavonoid diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada tanaman *Annona muricata* Linn seperti kaempferol, asam oktadekanoat, dan asam heksadekanoat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak daun sirsak memiliki IC50 sebesar 24,895 ppm yang menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Asbanu *et.al.*, 2019).

Alkaloid yang berasal dari *Annona muricata* Linn dapat menginduksi efek seperti antidepresan, dan aktivitas antisitotoksik. Ada pula senyawa fenolik yang ditemukan termasuk quercetin dan asam galat. Senyawa fenolik dianggap sebagai fitokimia utama yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. *Annona muricata* Linn cukup menjanjikan karena bioaktivitasnya seperti aktivitas antioksidan, aktivitas antiprotozoal, antiinflamasi, aktivitas

imunomodulator, dan aktivitas antivirus. Beberapa pemeriksaan antioksidan telah dilakukan pada *Annona muricata* Linn. Antioksidan alami dari spesies tumbuhan telah mendapatkan perhatian karena efek perlindungannya terhadap oksigen yang berasal dari radikal bebas yang terlibat dalam pengembangan banyak penyakit seperti kanker, penyakit kardiovaskuler, dan arthritis. Beberapa metode yang digunakan menentukan kapasitas antioksidan total termasuk kapasitas pembersihan radikal bebas (Gavakumulya, 2017).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan masalah pada latar belakang, penulis ingin mengetahui, apakah ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dapat memperbaiki kerusakan gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* akibat pemberian *metanil yellow*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek perbaikan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap kerusakan gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* akibat pemberian *metanil yellow*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk menambah pengetahuan dan wawasan peneliti dan sebagai penerapan disiplin ilmu yang telah dipelajari selama pendidikan kedokteran dasar.

1.4.2 Bagi Institusi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya dalam bidang *agromedicine* khususnya tentang potensi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn).

1.4.3 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi antioksidan daun sirsak sebagai antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gaster

2.1.1 Anatomi Gaster

Gaster adalah organ berongga besar menyerupai kantung yang terletak intraperitoneal di epigastrium kiri antara lobus hepatis sinistra dan limpa. Gaster sebagian besar ditutupi oleh arcus costalis sinistra namun sebagian kecil berbatasan langsung dengan dinding abdomen bagian ventral. Gaster memiliki dinding anterior dan posterior dengan curvatura minor terletak di sisi kanan, sedangkan curvatura major di sisi kiri (Shofa, 2014). Gaster merupakan bagian dari tractus gastrointestinal diantara esophagus dan duodenum. Organ ini adalah saluran pencernaan yang mengalami dilatasi sesuai dengan bentuk dan anatominya mempunyai fungsi sebagai penampung makanan, proses digesti (pencernaan) dan bagian kecil proses absorpsi (Netter, 2014).

Gaster terletak pada kuadran kiri atas dari cavitas peritoneal, biasanya berada di antara tulang vertebra T7 sampai tulang vertebra L3. Ukuran gaster bervariasi pada setiap individu, namun pada orang dewasa ukuran panjang gaster berkisar antara 15 cm hingga 25 cm. Diameter dan volume gaster sangat bergantung dari seberapa banyak makanan

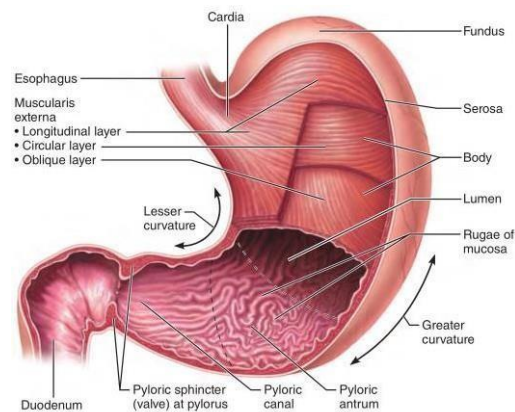
yang berada di dalamnya (Marieb and Hoehn, 2013). Pada kondisi kosong, gaster memiliki volume sekitar 50 mL dan volumenya akan terus bertambah ketika terisi makanan hingga pada kondisi terisi penuh gaster dapat menampung hingga 4 L. Ketika gaster tak terisi, gaster akan seolah mengecil dan mengerut ke dalam sehingga mukosa bagian dalam gaster akan berlipat membentuk lipatan-lipatan yang disebut *rugae gaster* (Martini *et.al.*, 2012).

Gaster dapat dibagi menjadi 4 bagian yaitu kardia, fundus, korpus, dan pilorus. Kardia merupakan bagian terkecil dari gaster, meliputi bagian superior dan medial dari pertemuan antara gaster dan esofagus. Kardia memiliki kelenjar mukus yang berlimpah yang menghasilkan sekret yang melapisi dinding dalam pertemuan antara gaster dan esofagus dan berperan melindungi esofagus dari enzim dan asam lambung. Bagian kedua yaitu fundus, meliputi bagian superior dari pertemuan antara esofagus dan gaster. Fundus bersentuhan langsung dengan bagian inferior dan posterior permukaan diafragma (Martini *et.al.*, 2012).

Korpus adalah bagian di antara fundus dan pilorus dan merupakan bagian terbesar pada gaster. Korpus bertindak sebagai tempat pencampuran makanan yang akan dicerna bersama sekret gaster. Kelenjar-kelenjar gastrika pada area fundus dan korpus mensekresikan sebagian besar asam lambung dan enzim yang diperlukan dalam digesti gaster. Bagian terbawah dan akhir pada gaster adalah pilorus. Pilorus terbagi menjadi dua bagian yaitu antrum pilori, yang berhubungan

dengan korpus gaster, dan kanal pilori yang akan menyalurkan kimus menuju duodenum, bagian proximal dari usus halus (Netter, 2014).

Vaskularisasi lambung berasal dari arteri gastrika sinistra yang berasal dari truncus coeliacus, arteri gastric dekstra yang merupakan cabang dari arteri hepatica, arteri gastroepiploica cabang dari arteri gastricaduodenalis, arteri gastromentalis cabang dari arteri splenica, dan arteri gastrica brevis cabang dari distal arteri splenica (Moore *et.al.*, 2014).



Gambar 1. Anatomi Gaster (Tortora and Derrickson, 2012)

2.1.2 Fisiologi Gaster

Lambung adalah rongga seperti kantong berbentuk J yang terletak diantara esofagus dan usus halus. Organ ini dibagi menjadi tiga bagian berdasarkan perbedaan struktur dan fungsi. Fundus adalah bagian lambung yang terletak diatas lubang esofagus. Bagian tengah atau utama lambung adalah korpus. Lapisan otot polos di fundus dan korpus relative tipis, tetapi bagian bawah lambung, antrum memiliki oto yang jauh lebih tebal. Perbedaan ketebalan otot ini memiliki peran penting

dalam motilitas lambung di kedua regio tersebut (Sherwood, 2012). Gaster merupakan organ yang berfungsi sebagai alat untuk mencerna makanan secara mekanik, dan kimiawi. Makanan yang ditelan mengalami homogenisasi lebih lanjut oleh kontraksi otot dinding gaster, dan secara kimiawi diolah oleh asam dan enzim yang disekresi oleh mukosa lambung. Saat makanan sudah menjadi kental, sedikit demi sedikit mendesak masuk ke dalam duodenum (Shofa, 2014).

Gaster memiliki fungsi motorik yaitu sebagai tempat penyimpanan makanan sebelum dicerna, fungsi sebagai mencampurkan makanan dengan sekresi gaster berupa asam lambung dan enzim pencernaan dan membentuk suatu campuran setengah padat berbentuk pasta yang disebut kimus, serta fungsi pengosongan gaster pada kecepatan yang sesuai untuk menyalurkan kimus dari gaster menuju duodenum (Guyton and Hall, 2014).

Fungsi utama sistem pencernaan adalah memindahkan nutrien, air, dan elektrolit dari makanan yang kita telan ke dalam lingkungan internal tubuh. Sistem pencernaan melakukan empat proses pencernaan dasar yaitu: motilitas, sekresi, digesti, dan absorpsi (Guyton and Hall, 2014). Ketika tidak ada makanan, mukosa lambung berbentuk lipatan yang besar, disebut rugae, dapat dilihat dengan mata telanjang. Pada saat terisi makanan, rugae menghilang dengan lancar seperti alat musik akordion dimainkan. Mukosa lambung terdiri dari tiga sel sekresi: sel chief, sel parietal, dan sel mukus. Sel chief menyekresi enzim

pepsinogen, sel parietal menyekresi asam klorida yang mengaktifkan pepsinogen menjadi pepsin, dan sel mukus menyekresi mukus untuk melindungi gaster (Rizzo, 2016).

Ketika kosong, lambung memiliki volume sekitar 50 mL, tetapi volume lambung dapat bertambah hingga sekitar 1 liter (1000 mL) saat makan. Lambung dapat menampung peningkatan volume 20 kali lipat, tetapi memungkinkan lambung menampung makanan dengan hanya menyebabkan sedikit peningkatan tekanan intralambung. Namun, jika makanan yang dikonsumsi melebihi 1 liter, lambung mengalami peregangan berlebihan, tekanan intralambung meningkat, dan yang bersangkutan merasa tidak nyaman (Sherwood, 2012).

Gaster bekerja dengan memperkecil partikel makanan menjadi larutan yang dikenal dengan nama kimus. Kimus tersebut mengandung fragmen molekul protein dan polisakarida, butiran lemak, garam, air, dan berbagai molekul kecil lain yang masuk bersama makanan. Tidak ada molekul-molekul tersebut yang dapat melewati epitel gaster kecuali air. Absorpsi paling banyak terjadi di usus halus (Widmaier *et.al.*, 2014).

Fungsi penyimpanan gaster yaitu ketika makanan masuk ke dalam gaster, makanan membentuk lingkaran konsentris makanan dibagian oral gaster, makanan yang paling baru terletak paling dekat dengan dinding luar gaster. Normalnya, bila makanan meregangkan gaster, “*reflex vasocagal*” dari gaster ke batang otak dan kemudian kembali ke

lambung akan mengurangi tonus di dalam dinding otot korpus gaster sehingga dinding menonjol keluar secara progresif, menampung jumlah makanan yang makin lama makin banyak sampai suatu batas saat gaster berelaksasi sempurna, yaitu 0,8 sampai 1,5 liter. Tekanan dalam gaster akan tetap rendah sampai batas ini dicapai (Shofa, 2014).

Beberapa menit setelah makanan masuk ke gaster, gelombang gerakan peristaltik akan bekerja pada gaster setiap 15 hingga 25 detik. Gelombang ini mencampurkan makanan dan cairan sekresi kelenjar gaster, dan mengubahnya menjadi pasta cair yang disebut kimus. Ketika pencernaan berlangsung di gaster, gelombang peristaltik yang lebih kuat dimulai pada korpus gaster dan akan semakin intensif saat mencapai pilorus (Tortora and Derrickson, 2012).

Ketika makanan mencapai pilorus, secara berkala gelombang peristaltik akan mendorong sekitar 3 mL kimus menuju duodenum melalui sfingter pilori, sebuah fenomena yang dikenal sebagai pengosongan gaster. Sebagian besar kimus akan terdorong kembali ke dalam korpus gaster sehingga terjadi pencampuran kembali kimus di dalam gaster (Guyton and Hall, 2014). Gerakan maju dan mundur dari isi gaster berperan besar untuk pencampuran makanan di gaster. Makanan dapat tetap berada di fundus selama satu jam tanpa bercampur dengan asam lambung. Selama waktu ini, pencernaan oleh amilase terus berlanjut. Segera setelah sekresi gaster dihasilkan, terjadi proses pembentukan kimus oleh gaster dan menonaktifkan amilase dan mengaktifkan lipase

yang mulai mencerna trigliserida menjadi asam lemak dan digliserida (Tortora and Derrickson, 2012).

Meskipun sel parietal mensekresi hidrogen (H^+) dan klorida (Cl^-) secara terpisah ke lumen gaster, hasil akhir dari sekresi tersebut adalah sekresi asam hidroklorida (HCl). Pompa proton yang didukung oleh H^+ / K^+ ATPase mengangkut H^+ ke dalam lumen sambil membawa ion kalium (K^+) ke dalam sel. Pada saat yang sama, Cl^- dan K^+ berdifusi ke lumen melalui kanal Cl^- dan K^+ di membran apikal. Enzim karbonat anhidrase, yang sangat banyak dalam sel parietal, mengkatalisis pembentukan asam karbonat (H_2CO_3) dari air (H_2O) dan karbon dioksida (CO_2). Ketika asam karbonat terdisosiasi, proses ini menyediakan sumber H^+ untuk pompa proton dan juga menghasilkan ion bikarbonat (HCO_3^-). Ion bikarbonat yang terbentuk di sitosol akan keluar dari sel parietal dan bertukar dengan Cl^- melalui antiporter Cl^- / HCO_3^- pada embol basolateral. HCO_3^- kemudian akan berdifusi ke kapiler darah terdekat (Tortora and Derrickson, 2012).

2.1.3 Histologi Gaster

Gaster terdiri dari beberapa lapisan, yaitu tunika mukosa, submukosa, tunika muskularis, dan tunika serosa. Mukosa gaster dilapisi oleh epitel kolumnar simpleks non goblet. Terdapat perubahan mendadak jenis epitel pada pertemuan antara esofagus dan gaster, yaitu dari epitel berlapis gepeng esofagus menjadi epitel selapis silindris gaster. Pada permukaan luminal gaster terdapat lubang-lubang kecil yang disebut

foveola gastrika (Mescher, 2016). Foveola gastrika dibentuk oleh epitel luminal yang berinvaginasi ke lamina propria jaringan ikat mukosa di bawahnya. Lapisan submukosa yang terdiri dari jaringan ikat padat yang terdapat di bawah mukosa gaster, mengandung banyak pembuluh darah dan saraf. Berbeda dengan esofagus dan usus halus yang hanya memiliki dua lapisan dinding otot tebal, muskularis eksterna gaster terdiri atas tiga lapisan. Bagian luar luar gaster dilapisi oleh lapisan serosa atau peritoneum viseral (Eroschenko, 2010).

Secara umum, histologis gaster dibagi menjadi empat daerah yaitu kardia, fundus, korpus, dan pilorus. Namun, struktur bagian fundus dan korpus identik secara mikroskopis sehingga hanya tiga daerah yang dapat dikenali secara histologis. Mukosa dan submukosa gaster yang kosong memperlihatkan lipatan- lipatan memanjang yang dikenal sebagai rugae, yang akan mendatar bila gaster terisi makanan (Eroschenko, 2010). Lamina propria yang tervascularisasi dan mengelilingi serta menunjang foveola dan kelenjar tersebut mengandung serabut otot polos dan sel limfoid. Suatu lapisan otot polos yang memisahkan mukosa dari submukosa di bawahnya adalah disebut mukosa muskularis (Mescher, 2016).

Jika diamati dengan pembesaran rendah, pada permukaan lumen gaster akan tampak banyak invaginasi kecil melingkar atau lonjong di lapisan epitel. Invaginasi ini adalah muara foveola gastrika. Epitel yang menutupi permukaan dan melapisi lekukan-lekukan tersebut adalah

epitel selapis silindris, dan selnya menghasilkan lapisan mukus protektif. Glikoprotein yang disekresi sel-sel epitel mengalami hidrasi dan bercampur dengan lipid dan ion bikarbonat juga dilepaskan dari epitel tersebut untuk membentuk suatu lapisan gen hidrofobik kental dengan gradien nilai pH 1 pada permukaan lumen dan pada sel epitel memiliki nilai pH 7 (Junqueira, 2012).

Kelenjar oksintik merupakan kelenjar fundus dan korpus yang menghasilkan sebagian besar getah gaster. Satu sampai tujuh kelenjar muncul dari satu foveola. Kelenjar oksintik meluas ke bawah. Menempati sebagian besar ketebalan mukosa. 12 Kelenjar oksintik memiliki tiga tipe utama sel, yaitu sel zimogenik (*chief cell*), sel parietal, dan sel mukus (*neck cell*). Sel zimogenik mensekresikan pepsinogen yang akan diubah menjadi pepsin pada keadaan asam. Sel parietal mensekresikan asam hidroklorida (HCl) dan faktor intrinsik. Sedangkan sel mukus berfungsi untuk mensekresi mukus (Shofa, 2014).

Asam hidroklorida, pepsin, lipase, dan empedu dalam lumen gaster harus dianggap sebagai agresor endogen yang potensial di lapisan epitel. Mukus yang melekat erat pada permukaan epitel sangat efektif untuk melindungi, sementara lapisan mukus pada permukaan lumen lebih larut dan sebagian tercerna oleh pepsin serta bercampur dengan isi lumen. Sel epitel permukaan juga membentuk lini pertahanan yang penting berkat produksi mukusnya, taut antar selnya dan pengangkut ion yang mempertahankan pH intrasel dan produksi bikarbonat. Lini

pertahanan ketiga adalah jalinan sirkulasi di bawahnya yang menyediakan ion bikarbonat nutrien dan oksigen ke sel-sel mukosa, sambil menghilangkan produk metabolik beracun. Sejumlah besar vaskularisasi juga menunjang penyembuhan luka superfisial secara cepat pada mukosa (Junqueira, 2012).

Mukosa kedua regio tersebut mengandung kelenjar tubular yang biasanya bercabang dengan bagian sekretorik bergelung yang disebut kelenjar kardia dan kelenjar pilorus. Celah yang bermuara ke dalam kelenjar tersebut berukuran lebih panjang di pilorus. Di kedua regio tersebut, kelenjar ini menyekresikan banyak mukus dan lisozim, suatu enzim yang menyerang dinding bakteri (Mescher, 2016).

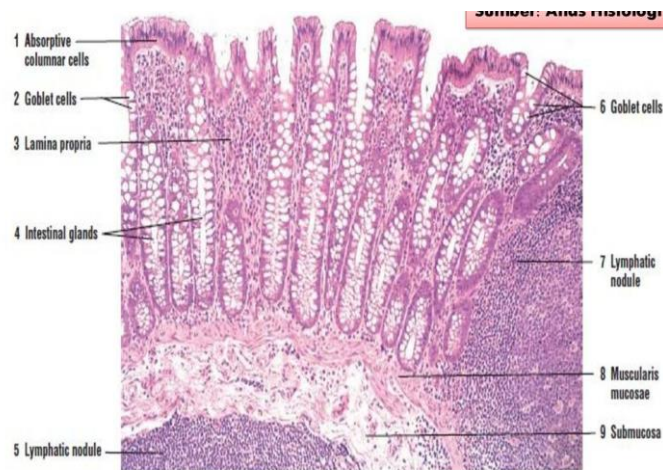


FIGURE 13.9 ■ Large intestine: colon wall (transverse section). Stain: hematoxylin and eosin. $\times 30$.

Gambar 2. Histologi Gaster (Mescher, 2016)

2.1.4 Patologi Gaster

Lambung dibagi dalam empat regio anatomi utama yaitu: kardia, fundus, korpus dan antrum. Kardia terutama dilapisi oleh sel foveolar yang mensekresi musin, yang membentuk kelenjar dangkal. Kelenjar antrum mirip, tetapi juga mengandung sel endokrin, seperti sel G yang melepaskan gastrin untuk merangsang sekresi asam luminal oleh sel parietal di fundus dan korpus lambung. Kelenjar yang terbentuk sempurna di korpus dan fundus juga mengandung sel chief yang memproduksi dan mensekresi enzim pencernaan seperti pepsin (Abbas *et.al.*, 2015).

Gaster secara fisiologis memiliki mekanisme untuk melindungi dan menjaga integritas lumen gaster yang sering terpapar asam klorida ketika terjadi proses pencernaan. Mekanisme protektif pada lumen gaster yaitu dengan mensekresikan mukus yang membentuk lapisan pada epitel gaster dan memiliki pH netral akibat sekresi ion bikarbonat oleh sel-sel epitel. Vaskularisasi yang kaya pada gaster juga melindungi jaringan gaster dengan menyuplai oksigen, bikarbonat, dan zat nutrien ke jaringan gaster. Adanya gangguan dalam mekanisme perlindungan gaster akan menimbulkan peradangan yang salah satunya adalah gastritis (Annisah, 2019).

Gastritis merupakan suatu peradangan atau peradangan dan perdarahan mukosa lambung yang dapat bersifat akut, kronis dan difus. Dua jenis gastritis yang sering terjadi adalah gastritis superfisial akut dan gastritis

atropik kronis (Hardi and Huda, 2015). Gastritis akut adalah proses peradangan mukosa sementara, yang mungkin tidak menimbulkan gejala atau menyebabkan berbagai derajat nyeri epigastrium, mual dan muntah. Pada kasus yang lebih parah, mungkin terdapat erosi mukosa, ulkus, perdarahan, hematemesis, melena atau kadang-kadang kehilangan darah massif (Abbas *et.al.*, 2015). Proses inflamasi atau peradangan yang terjadi dapat disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya yaitu, akibat infeksi dan iritasi zat-zat iritan. Infeksi bakteri *Helicobacter pylori* merupakan penyebab gastritis yang paling sering terjadi padanegara berkembang. Infeksi oleh bakteri. Pada awal infeksi oleh kuman *Helicobacter pylori* mukosa gaster akan menunjukkan respon inflamasi akut. Secara endoskopik sering tampak sebagai erosi dan tukak atau lesi hemoragik (Sudoyo *et.al.*, 2014).

Gastritis merupakan proses inflamasi pada lapisan mukosa dan submukosa gaster yang dapat mengakibatkan kurangnya produksi asam, enzim, dan mukus. Secara histopatologi dapat dibuktikan adanya infiltrasi sel-sel radangpada daerah tersebut (Shofa, 2014). Penurunan perfusi darah pada mukosa lambung memegang peranan penting dalam patofisiologi ulkus akibat *stress ulcer* pada syok, sepsis, trauma berat dan sebagainya. Pada orang tua dengan ulkus lambung ternyata disertai arteriosklerosis dan atrofi mukosa, keadaan ini yang mempermudah kerusakan mukosa lambung (Abbas *et.al.*, 2015).

Terdapat beberapa jenis virus yang dapat menginfeksi mukosa gaster misalnya *enteric rotavirus* dan *calicivirus*. Kedua jenis virus tersebut dapat menimbulkan gastroenteritis, tetapi secara histopatologi tidak spesifik. Hanya *cytomegalovirus* yang dapat menimbulkan gambaran histopatologi yang khas infeksi *cytomegalovirus* pada gaster biasanya merupakan bagian dari infeksi pada banyak organ lain, terutama pada organ muda dan *immunocompromised* (Sudoyo *et.al.*, 2014).

Jamur spesies *Candida*, *Histoplasma capsulatum* dan *Mukonaceae* dapat menginfeksi mukosa gaster hanya pada pasien *immunocompromised*. Pasien yang sistem imunnya baik biasanya tidak dapat terinfeksi oleh jamur. Sama seperti infeksi akibat jamur, mukosa gaster bukan tempat yang mudah terkena infeksi parasit. Obat anti-inflamasi nonsteroid (OAINS) merupakan penyebab gastritis yang amat penting. Gastritis akibat OAINS bervariasi sangat luas, dari hanya berupa keluhan nyeri ulu hati sampai pada tukak peptik dengan komplikasi perdarahan saluran cerna bagian atas (Sudoyo *et.al.*, 2014).

Gastritis kronik hipertrophica memiliki gambaran mikroskopik berupa penebalan *antrum pylorus* disertai lipatan yang menonjol atau berbentuk papil. Hal ini memberi kesan bahwa dinding lambung menebal. Pada membrana mukosa terdapat sel yang mensekresi mukus lebih menonjol dan papil-papil yang dibentuk oleh folikel limfoid serta kelompok limfosit di daerah sub mukosa. Kelenjar pada mukosa

lambung mengalami dilatasi dan proliferasi epitel (Shofa, 2014). Konsumsi bahan kimia keras, terutama asam atau basa juga dapat mengakibatkan cedera lambung parah, terutama sebagai akibat kerusakan langsung pada sel epitel mukosa dan stroma (Abbas *et.al.*, 2015).

Tukak peptik yaitu tukak lambung dan tukak duodenum merupakan penyakit yang masih banyak ditemukan di klinik. Tukak peptik dapat digolongkan dalam dua bentuk, yaitu tukak peptik akut dan tukak peptik kronik. Tukak peptik akut berhubungan dengan luka bakar hebat, perdarahan serebral, pengobatan steroid, tumor hipofisis, uremia, dan iritasi bahan kimia. Lokalisasi tukak umumnya bersifat multiple, dapat ditemukan pada permukaan mukosa lambung dan kadang pada mukosa duodenum. Tukak lambung umumnya satu atau lebih, kecil, dan pada mukosa lambung. Tukak lambung dapat menembus ke dalam mukosa tetapi tak menembus lapisan muskularis mukosa, disertai sekukan sel radang ringan dan tidak ditemukan perubahan vaskularisasi dan fibrosis (Shofa, 2014).

Tukak peptik kronik sering berbentuk soliter yang terjadi pada permukaan mukosa saluran cerna, merupakan aksi progresif dari asam lambung. Tukak peptik kronik memperlihatkan bahwa pada daerah lesi tampak permukaan dasar tukak terdapat jaringan granulasi serta masa nekrotik, di bawah tukak tampak daerah yang aktif dari jaringan granulasi serta radang non spesifik, dasar tukak berupa jaringan ikat

tebal, mengandung pembuluh darah *end-artery*, sel radang kronik dan jaringan ikat yang menyebar luas. Akibatnya, seluruh jaringan otot diganti jaringan ikat dan dapat menyebar sampai peritoneum, epitel tepi tukak pada proses penyembuhan mengalami proliferasi tetapi bagian superfisial sampai muskularis mukosa masih tersisa (Haris, 2014).

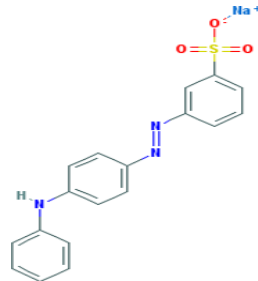
Diagnosis ditegakkan berdasarkan pemeriksaan endoskopi dan histopatologi. Sebaiknya biopsi dilakukan secara sistematis dengan mencantumkan topografi. Gambaran endoskopi yang dapat dijumpai adalah eritema, eksudatif, *flat-erosion*, *raised erosion*, perdarahan, *edematous rugae*. Perubahan-perubahan histopatologi selain menggambarkan perubahan morfologi sering juga dapat menggambarkan poses yang mendasari. Perubahan-perubahan yang terjadi berupa degradasi epitel, hiperplasia foveolar, infiltrasi netrofil, inflamasi sel mononuklear, folikel limfoid, atropi, metaplasia intestinal, hiperplasia sel endokrin, kerusakan sel parietal (Sudoyo *et.al.*, 2014).

2.2 *Metanil Yellow*

2.2.1 Definisi *Metanil Yellow*

Metanil yellow adalah pewarna sintetis yang digunakan pada industri tekstil, kertas dan cat. Pewarna ini berbentuk serbuk atau padat yang berwarna kuning kecoklatan. *Metanil yellow* bersifat larut dalam air dan alkohol, agak larut dalam benzene dan eter, serta sedikit larut dalam aseton (Shofa and Ismail, 2014). *Metanil yellow* sangat berbahaya jika terhirup, mengenai kulit, mengenai mata, dan tertelan.

Penyalahgunaan pewarna *metanil yellow* antara lain pada mie, kerupuk, dan jajanan lain yang berwarna kuning mencolok berpendar (Zuraida



et.al., 2015). Zat warna sintetis *metanil yellow* memiliki rumus kimia $C_{18}H_{14}N_3O_3SNa$ dengan struktur kimia *metanil yellow* dapat dilihat pada Gambar 3. Data molekul *metanil yellow* dapat dilihat pada Tabel 1.

Gambar 3. Struktur Kimia Metanil Yellow (Pubchem, 2019)

Metanil yellow merupakan salah satu pewarna azo yang telah dilarang digunakan dalam pangan (BPOM RI, 2012). Pelarangan tersebut dikarenakan jika zat pewarna azo *metanil yellow* tertelan dapat menyebabkan iritasi saluran cerna. Selain itu, senyawa ini dapat pula menyebabkan mual, muntah, sakit perut, diare, demam, lemah, dan hipotensi (Sarkar and Ghosh, 2017). Dampak yang terjadi akibat penggunaan zat pewarna *metanil yellow* dapat berupa iritasi pada saluran pernafasan, iritasi pada kulit, iritasi pada mata, dan bahaya kanker pada kandung kemih. Bahaya lebih lanjut yakni menyebabkan kanker pada dan saluran kemih. Penyalahgunaan pewarna *metanil yellow* pada makanan antara lain pada produk mie, kerupuk dan jajanan lain yang berwarna kuning mencolok berpendar (Zuraida *et.al.*, 2017).

Tabel 1. Struktur Kimia *Metanil Yellow*

Keterangan	Penjelasan
Berat molekul	375,38 g/mol
Rumus molekul	$C_{18}H_{14}N_3O_3SNa$
Nomor CAS	587-98-4
RTECS	DB7329500
Merek index	14.5928
pH	1,2-2,3
Titik Leleh	>250°C
Golongan	Dyes, azo
Kelarutan	Larut dalam air, alkohol, sedikit larut dalam benzene, dan agak larut dalamaseton
Sinonim	3-[[4(<i>Phenylamino</i>) <i>Phenyl</i>]Azo] <i>Benzene Sulfonic Acid Monosodium Salt; Acid Yellow 36</i>

(Sumber: Pubchem, 2019)

Metanil yellow dapat bersifat toksik dan mengganggu berbagai sistem fisiologis tubuh. *Metanil yellow* akan berbahaya bila diserap oleh usus bersama makanan yang dicerna dan masuk ke dalam aliran darah. *Metanil yellow* yang merupakan zat kimia bersifat toksik mengalir dalam sistem perdarahan dan mencapai berbagai organ dan mengintervensi berbagai proses metabolik seluler. *Metanil yellow* dapat menyebabkan stres oksidatif pada berbagai organ vital seperti jantung, hepar, gaster, dan ginjal (Sarkar and Ghosh, 2012). Kandungan logam berat terbanyak pada *metanil yellow* yaitu perak, tembaga dan merkuri (Mawardi *et.al.*, 2017).

2.2.2 Efek *Metanil Yellow* Terhadap Gaster

Metanil yellow dapat langsung masuk ke dalam sistem pencernaan ketika individu mengkonsumsi makanan yang terpapar zat pewarna azo tersebut. *Metanil yellow* dapat menimbulkan gastrotoksisitas, hepatotoksisitas, dan merusak usus. *Metanil yellow* yang dicerna oleh

tubuh akan mengganggu sistem antioksidan alami yang dimiliki tubuh dan memicu pembentukan radikal bebas (Cahyadi, 2019).

Metanil yellow dapat menyebabkan kerusakan jaringan melalui mekanisme stres oksidatif. Pada penelitian yang menggunakan ikan (*Heteropneustes fossilis*) sebagai objek penelitian didapatkan bahwa paparan *metanil yellow* menyebabkan kerusakan lipatan gaster, menghancurkan sel-sel epitel, hilangnya *microridge* dari membran plasma apikal, dan fragmentasi. *Metanil yellow* juga menyebabkan erosi dan degenerasi pada kelenjar gastrika (Sarkar and Ghosh, 2017).

Zat warna yang dimetabolisme dan atau dikonjugasi dihati, beberapa ada yang melanjut ke empedu memasuki jalur sirkulasi enterohepatik. Zat warna azo yang larut dalam air akan diekskresi secara kuantitatif melalui empedu, sedangkan yang larut dalam lemak akan diabsorpsi sempurna dalam usus dan dimetabolisme dalam hati oleh enzim azo-reduktase membentuk amin primer yang sesuai. (Anthony, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Shofa dan Ismail (2014) mengenai pengaruh pemberian *metanil yellow* peroral dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran histopatologi gaster mencit (*Mus musculus*) balb/c didapatkan hasil bahwa pemberian *metanil yellow* peroral dengan dosis 1050 mg/kgBB/hari, 2100 mg/kgBB/hari, dan 4200 mg/kgBB/hari memberikan perbedaan gambaran histopatologi pada gaster mencit yang bervariasi mulai dari deskuamasi epitel hingga nekrosis jaringan gaster mencit (*Mus musculus*).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sarkar and Ghosh (2012) mengenai perubahan gambaran histopatologis organ-organ pencernaan tikus putih yang diberi paparan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari selama 30 hari didapatkan hasil bahwa *metanil yellow* dapat merusak jaringan gaster. Oleh karena sifat toksisitas dari zat pewarna sintetis *metanil yellow*, lapisan epitelium gastrika mengalami degenerasi dan terjadi hipersekresi mukus di atas lapisan tersebut.

Nekrosis juga terjadi pada sel-sel epitel kolumnar dari gaster. Ditemukan erosi dan degenerasi pada kelenjar- kelenjar gastrika sehingga menyebabkan terbentuknya vakuola-vakuola pada tunika propria dan lapisan submukosa. Pada lapisan serosa dan muskular juga tampak terjadi kerusakan (Abbas *et.al.*, 2015).

2.3 Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

2.3.1 Deskripsi Umum

Sirsak (*Annona muricata* Linn) merupakan tanaman tahunan yang mudah dijumpai di berbagai tempat di Indonesia. Sirsak tergolong ke dalam famili *Annonaceae* yang tersebar di daerah tropis dan subtropis. Pada famili ini terdapat sekitar 130 genus dengan 2000 spesies. Di Indonesia tersebar 20 genus dengan lebih dari 40 spesies *Annonaceae*, salah satunya sirsak. Dari sekian banyak spesies *Annonaceae*, *A. muricata* merupakan tanaman yang lebih mudah tumbuh di Indonesia karena membutuhkan iklim tropis yang lembab dan hangat (Salempa, 2016).

Nama sirsak berasal dari kata *Zuurzak*, yang menurut bahasa Belanda memiliki arti kantung yang asam (Kurniasih *et.al.*, 2015). Tanaman *Annona muricata* Linn banyak ditemukan pembudidayaannya di Indonesia karena memiliki banyak khasiat diantaranya tinggi karbohidrat, vitamin c dan mineral. Khasiat dari tanaman ini khususnya bagian daun telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman obat tradisional anti-kanker, anti-hipertensi, dan anti-spasmodik (Setyawati *et.al.*, 2015). Selain itu, air rebusan dari daun sirsak juga digunakan sebagai dalam mengobati kista, kolesterol, hipertensi, tumor, dan kanker (Salempa, 2016).

Alkaloid yang berasal dari *Annona muricata* Linn dapat menginduksi efek seperti antidepresan, dan aktivitas anti sitotoksik. Ada pula senyawa fenolik yang ditemukan termasuk quercetin dan asam galat. Senyawa fenolik dianggap sebagai fitokimia utama yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. *Annona muricata* Linn cukup menjanjikan karena bioaktivitasnya seperti aktivitas antioksidan, aktivitas antiprotozoal, antiinflamasi, aktivitas imunomodulator, dan aktivitas antivirus. Beberapa pemeriksaan antioksidan telah dilakukan pada *Annona muricata* Linn. Beberapa metode yang digunakan menentukan kapasitas antioksidan total termasuk kapasitas pembersihan radikal bebas (Gavakumulya, 2017).



Gambar 4. Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) (Kurniasih et.al., 2015)

Adapun taksonomi dari tanaman *Annona muricata* Linn ialah:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyte
 Sub divisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotoyldoneae
 Ordo : Polycarpiceae
 Famili : Annonaceae
 Genus : *Annona*
 Spesies : *Annona muricata* Linn

Nama umum: *Graviola* (Brazil), *Soursop* (Inggris), *Guanabana* (Spanyol), Nangka Sabrang atau Nangka Belanda (Jawa), Nangka Walanda atau Sirsak (Sunda).

2.3.2 Kandungan Senyawa Kimia

Tanaman *Annona muricata* Linn memiliki potensi sebagai antikanker, antikonvulsan, antiinflamasi, antioksidan, hepatoprotektif, antidiabetes, dan antihipertensi (Moghadamtousi *et.al.*, 2015). Kandungan pada tanaman *Annona muricata* Linn diantaranya adalah alkaloid, flavonol triglikosida, megastigmane, fenolik, siklopeptida, dan

asetogenin. Tanaman ini memiliki potensi tinggi sebagai antioksidan (Zakiah *et.al.*, 2017). *Annona muricata* Linn memiliki potensi anti inflamasi yang ditunjukkan dengan penghambatan mediator inflamasi termasuk TNF-a, IL-1b, IL-6 (Gavakumulya, 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektronnya sehingga terjadi penghambatan oksidan tersebut. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan yang di akibatkan oleh molekul tidak stabil atau radikal bebas. Radikal bebas dapat menerima donor elektron dari antioksidan sehingga radikal bebas dapat stabil dan menghentikan reaksi berantai. Selain itu, antioksidan dapat mencegah terbentuknyaradikal bebas dalam tubuh (Irianti *et al.*, 2017).

Berdasarkan penelitian Gavamukulya *et.al.* tahun 2014, ekstrak etanol daun *Annona muricata* Linn menunjukkan adanya aktivitas antikanker dan antioksidan. Hasil analisis fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun *Annona muricata* Linn mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, kumarin dan lakton, antrakuinon, tanin, fenol, dan fitosterol. Pada tahun berikutnya, dilakukan analisis GM-CS (*Gas Chromatograph Mass Spectroscopy*) untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanol daun sirsak. Dari 25 senyawa yang diperiksa, didapatkan 12 senyawa yang teridentifikasi dan sesuai dengan efektivitas sebagai antioksidan dan antikanker pada penelitian

sebelumnya. Senyawa tersebut diantaranya adalah *1,2-Benzenedicarboxylic acid*, *3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol*, *butyl octyl ester*, dan *n-Hexadecanoic* (Shibula and Velavan, 2015).

Tabel 2. Komponen Senyawa pada Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

No Molekul	Komponen Senyawa	Rumus Molekul
1	Metil 9-oksononoat	$C_{10}H_{18}O_3$
2	Isopulegol	$C_{10}H_{18}O$
3	5-metil-2-(1-metilenil) sikloheksanol	$C_{10}H_{18}O$
4	8-hidroksimentol	$C_{10}H_{30}O$
5	Etil 2-hidroksi-1-(hidroksimetil) heksadekanoat	$C_{35}H_{68}O_5$
6	Asam Heksadekanoat	$C_{16}H_{32}O_2$
7	Propil 2,3-dihidroksi 9-oktadekanoat	$C_{31}H_{20}O_4$
8	Asam oktadekanoat	$C_{18}H_{36}O_2$
9	2-(dimetil-lambda(4)-sulfanylidene)malonic acid, dimetil ester	$C_7H_{12}O_4S$
10	Kaempferol	$C_{13}H_{10}O_6$
11	Asam 9,12-oktadekadienoat (Z,Z)	$C_{18}H_{32}O_2$

(Sumber: Asbanu *et.al.*, 2019)

Berdasarkan pemeriksaan kromatogram ekstrak daun sirsak, terdapat 12 komponen senyawa yang terkandung di dalamnya, antara lain sebagai berikut (Asbanu *et.al.*, 2019). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC50 <10 µg/mL, kuat jika nilai IC50 berkisar antara 10-50 µg/mL, sedang jika nilai IC50 berkisar antara 50-100 µg/mL, lemah jika nilai IC50 berkisar antara 100-250 µg/mL dan dinyatakan tidak aktif jika nilai IC50 >250 µg/mL. Hasil dari pengujian ini menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *Annona muricata* Linn memiliki IC50 sebesar 1,512 µg/mL yang menunjukkan bahwa

tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Aminah *et.al.*, 2016).

Ekstrak daun *Annona muricata* Linn juga bersifat hepatoprotektif serta memiliki aktivitas penurunan bilirubin. Hal ini didasarkan penelitian Zakiah *et.al.* tahun 2017, pemberian ekstrak etanol daun sirsak selama 14 hari pada tikus putih jantan yang diinduksi parasetamol dosis tinggi menunjukkan kerusakan hepar yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba merupakan hewan yang dapat digunakan dalam penelitian medis maupun biomedis dan dipelihara secara intensif di laboratorium. Salah satu hewan yang sering digunakan dalam penelitian adalah tikus (*Rattus norvegicus*). Sebagai hewan coba, tikus putih memiliki kelebihan dibandingkan hewan coba yang lain yaitu pemeliharaan dan penanganan tikus mudah karena ukuran tubuh tikus yang relatif kecil dan memiliki kemampuan reproduksi yang tinggi dengan masa kehamilan yang singkat, serta memiliki karakteristik produksi dan reproduksi yang mirip dengan mamalia lain. Tikus laboratorium lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman dan lebih cepat berkembang biak (Malole and Pramono, 2019).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang digunakan sebagai hewan coba penelitian karena sifatnya yang menguntungkan seperti perkembangbiakan yang cepat, memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan mencit, mudah dipelihara dan jumlahnya yang banyak. Tikus putih mempunyai ciri

seperti kepala yang kecil, albino, ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, kemampuan laktasi tinggi, dan bertempramen baik (Sengupta, 2013).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan percobaan yang umum digunakan dalam penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna, mudah dipelihara, dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian (Nursyah, 2012). Sistematika tikus (*Rattus norvegicus*) berdasarkan taksonomi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Taksonomi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

No	Kingdom	Animalia
1	Filum	Chordata
2	Kelas	Mamalia
3	Ordo	Rodentia
4	Famili	Muridae
5	Genus	<i>Rattus</i>
6	Spesies	<i>Rattus norvegicus</i>

(Sumber: Nursyah, 2012)

Tabel 4. Sifat Biologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Kriteria	Keterangan
Lama bunting	20-22 hari
Umur dewasa	40-60 hari
Umur dikawinkan	8 minggu
Berat dewasa Jantan	300-400 g
Berat dewasa betina	250-300 g
Siklus estrus	4-5 hari
Perkawinan	Pada waktu estrus
Fertilitas	7-10 jam setelah kawin
Aktivitas	Nokturnal (malam)
Konsumsi makanan	15-30 g/hari
Konsumsi minuman	20-45 ml/hari

(Sumber: Smith and Mangkoewidjojo, 2017)

Keunikan yang dimiliki tikus dibandingkan hewan coba lain yaitu tikus memiliki struktur anatomi yang unik pada bagian pertemuan antara esophagus dan gaster tikus sehingga tikus tidak dapat muntah yang mempermudah proses penelitian ketika memberikan perlakuan per oral pada tikus menggunakan sonde (Smith and Mangkoewidjojo, 2017). Selain itu fungsi dan bentuk organ, proses biokimia dan biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan. Sifat-sifat dari tikus yang sudah diketahui dengan sempurna inilah yang menjadikan tikus sering digunakan dalam penelitian (Nursyah, 2012).

2.5 Kerangka Teori Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Gambaran Histopatologi Gaster Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* Yang Diinduksi *Metanil Yellow*.

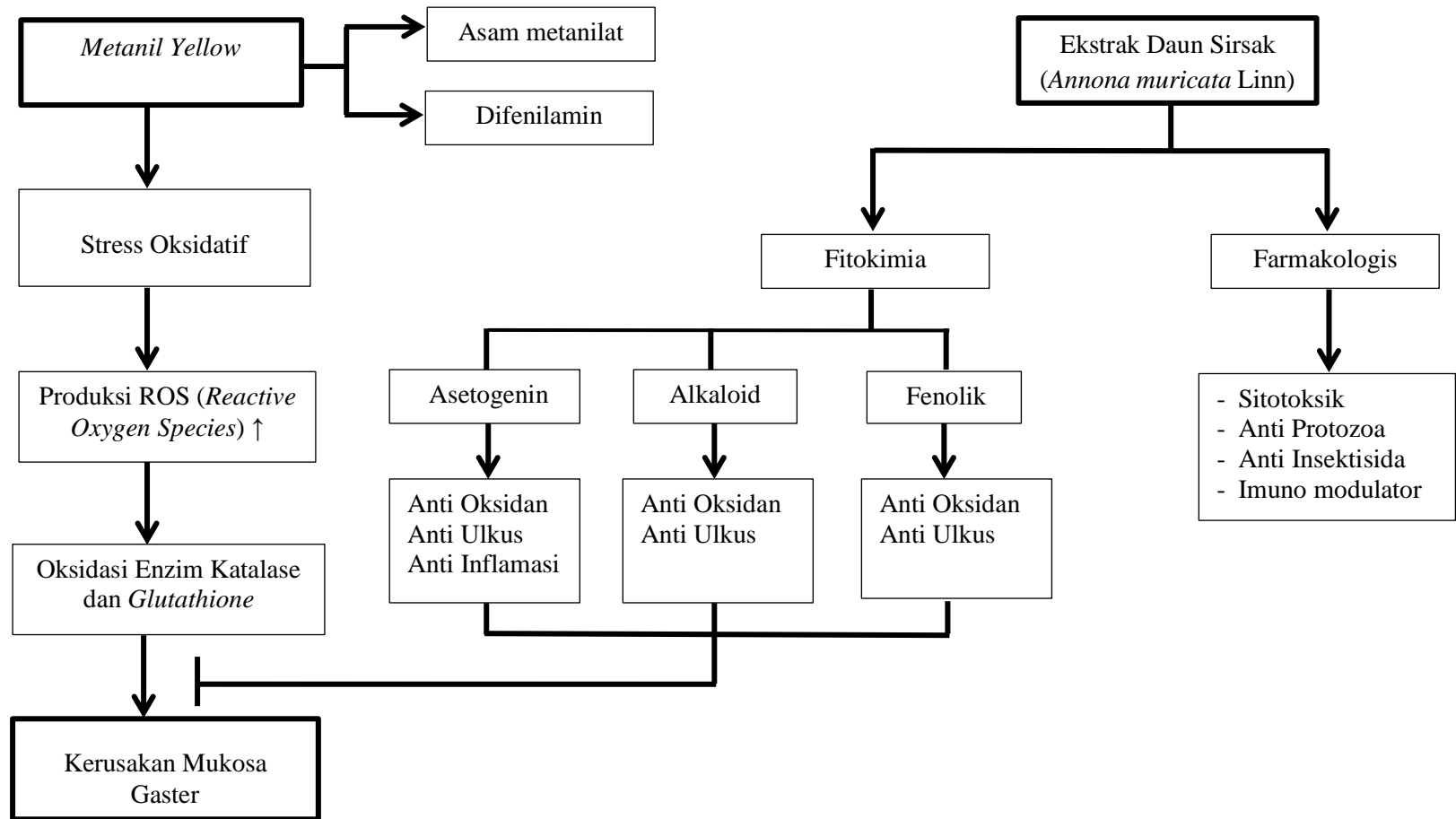
Paparan *metanil yellow* khususnya pada saluran cerna seperti gaster dapat bersifat toksik dan menyebabkan degenerasi epitel gaster hingga nekrosis pada kelenjar gastrika (Anjasmara *et al.*, 2017). Hal ini dapat terjadi karena *metanil yellow* dapat menginduksi terjadinya stres oksidatif pada gaster yaitu melalui produksi dari *reactive oxygen species* (ROS). Pada keadaan normal, reaksi oksidatif dapat diatasi dengan pengikatan dengan antioksidan alami yang dimiliki tubuh. Namun, apabila paparan dari *metanil yellow* terjadi secara terus-menerus maka tubuh tidak dapat melakukan kompensasi karena terjadi penurunan produksi dari antioksidan di dalam tubuh (Sarkar and Ghosh, 2017). Ekstrak *Annona muricata* Linn mengembalikan aktivitas enzim seperti *glutathione* (GHS), katalase (CAT), yang mengurangi ROS seluler. Ekstrak tersebut melindungi jaringan lambung dari lesi hemoragik

yang berhubungan dengan infiltrasi leukosit dan edema submukosa (Gavakumulya, 2017).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, ekstrak dari daun sirsak memiliki beberapa manfaat sebagai antiinflamasi dan antiulkus pada gaster karena kandungan antioksidan seperti D-limonen dan flavonoid yang dimiliki oleh ekstrak tersebut (Al-Howiriny *et al.*, 2010; Kooti *et al.*, 2014). Kandungan ini dapat menjadi agen protektif terhadap kerusakan pada gaster karena cara kerja D-Limonen yang dapat mesupresi *matrixmetalloproteinase* (MMP)-2 dan ekspresi gen-9 (Yu *et.al.*, 2017). Kandungan flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan yang bekerja untuk menangkal radikal bebas melalui kemampuannya dalam menangkap *reactive oxygene species* (ROS) dan mendonorkan satu atom hidrogen atau mentransfer satu electron untuk menangkal radikal bebas (Banjarnahor and Artanti, 2015).

Alkaloid yang berasal dari ekstrak daun sirsak dapat menginduksi efek seperti antidepresan, dan aktivitas anti sitotoksik. Ada pula senyawa fenolik yang ditemukan termasuk quercetin dan asam galat. Senyawa fenolik dianggap sebagai fitokimia utama yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan. Ekstrak daun sirsak cukup menjanjikan karena bioaktivitasnya seperti aktivitas antioksidan, aktivitas antiprotozoal, antiinflamasi, aktivitas imunomodulator, dan aktivitas antivirus. Beberapa pemeriksaan antioksidan telah dilakukan dengan antioksidan alami dari spesies tumbuhan telah mendapatkan perhatian karena efek perlindungannya terhadap oksigen yang

berasal dari radikal bebas yang terlibat dalam pengembangan banyak penyakit seperti kanker, penyakit kardiovaskuler, dan arthritis. Beberapa metode yang digunakan menentukan kapasitas antioksidan total termasuk kapasitas pembersihan radikal bebas. Ekstrak daun sirsak memiliki potensi anti inflamasi yang ditunjukkan dengan penghambatan mediator inflamasi termasuk TNF-a, IL-1b, IL-6 (Gavakumulya, 2017).



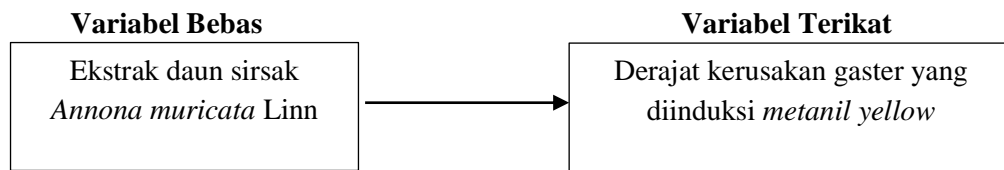
Gambar 5. Kerangka Teori

→ : Mempengaruhi

┐ : Menghambat

□ : Diteliti

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Berdasarkan uraian tinjauan pustaka di atas, didapatkan hipotesis sebagai berikut:

Ha: Terdapat perbaikan dalam pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap perbaikan kerusakan gaster tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan metode penelitian eksperimental untuk mengetahui dari gambaran mikroskopis gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* setelah diinduksi *metanil yellow* dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian dilakukan dengan cara membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kelompok kontrol. Subjek penelitian sebanyak 25 ekor tikus putih jantan dewasa dipilih dengan teknik *simple random sampling* dan dibagi menjadi 5 kelompok, dan digunakan sebagai subjek penelitian. Pada penelitian ini digunakan tikus karena secara anatomi dan histologi struktur gaster tikus mirip dengan manusia sehingga perubahan yang terjadi pada gaster tikus pada penelitian ini dapat dipakai sebagai model pada manusia.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, kemudian pembuatan ekstrak etanol daun sirsak dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung, pembuatan serta

pembacaan preparate dilakukan di Laboratorium Anatomi, Histotologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Rentang waktu untuk dilakukan penelitian selama 2 bulan yaitu pada bulan Mei 2021 – Juni 2021, meliputi pengambilan sampel, adaptasi, perlakuan selama 30 hari, sampai dilakukannya terminasi dan pengambilan sampel organ gaster pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) untuk dilakukan identifikasi gambaran histopatologi.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley usia 8 – 12 minggu yang diperoleh dari *Animal Vet Laboratorium Services* Dramaga, Bogor.

3.3.2 Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur *Sprague dawley*. Tikus yang di uji cobakan sebanyak 25 ekor dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan sebagai kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok perlakuan dengan *metanil yellow* yang diberikan ekstrak etanol daun sirsak dosis bertingkat. Perhitungan jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer.

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

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok. Penelitian ini

menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi :

$$(5 - 1) (n - 1) \geq 15$$

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

$$n - 1 \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5 \text{ (pembulatan)}$$

Maka sampel yang digunakan untuk tiap kelompok perlakuan yaitu sebanyak 5 ekor tikus putih galur *Sprague dawley*. Untuk menghindari *drop out* ditambahkan tikus dengan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

N = Besar sampel koreksi

n = Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f = Perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10% (Sastroasmoro and Ismael, 2014)

$$N = \frac{5}{1 - f}$$

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

$$N = 5 + 0,9$$

$$N = 5,9$$

$$N = 6 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan sampel diatas, akan diberikan penambahan 1 ekor tikus per kelompok perlakuan untuk menghindari *drop out*.

Sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus putih galur *Sprague dawley*. Sampel akan dipilih menggunakan metode *simple random sampling*.

3.3.3 Kelompok Perlakuan

1. Kelompok kontrol negatif (K-)

Kelompok sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) hanya diberi akuades 2 ml/hari secara peroral selama 30 hari tanpa diinduksi *metanil yellow* dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn).

2. Kelompok kontrol positif (K+)

Kelompok sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari secara peroral selama 30 hari tanpa diberikan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn).

3. Kelompok perlakuan 1 (P1)

Kelompok sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari secara peroral selama 30 hari bersamaan dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 100 mg/kgBB/hari.

4. Kelompok perlakuan 2 (P2)

Kelompok sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan *metanil yellow* (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari secara peroral selama 30 hari bersamaan dengan

pemberian ekstrak etanol daun sirsak dengan dosis 200 mg/kgBB/hari.

5. Kelompok perlakuan 3 (P3)

Kelompok sampel tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi dengan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari secara peroral selama 30 hari bersamaan dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 400 mg/kgBB/hari.

3.3.4 Kriteria Inklusi

Adapun kriteria inklusi pada penelitian ini ialah:

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan.
2. Usia 2-3 bulan.
3. Berat badan 150-200 gram.
4. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) tampak sehat serta bergerak aktif, secara pengamatan visual tidak tampak kelainan anatomis.

3.3.5 Kriteria Eksklusi

Adapun kriteria eksklusi pada penelitian ini ialah:

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) mengalami penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% selama adaptasi.
2. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) tampak sakit yang ditunjukkan dengan penampakan rambut kusam, rontok, atau botak, serta aktivitas yang kurang atau tidak aktif.
3. Mati selama masa perlakuan.

3.3.6 Cara Pengambilan Sampel

Untuk menghindari bias maka pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*). Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel yang diambil dari tikus putih sudah memenuhi kriteria inklusif dan eksklusif sehingga dianggap cukup homogen.

3.4 Bahan dan Alat Penelitian

3.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah:

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur sprague dawley;
- b. *Metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB;
- c. Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 100mg/kgBB/hari; 200 mg/kgBB/hari; dan 400 mg/kgBB/hari.
- d. Akuades; dan
- e. Pakan dan minum tikus.

3.4.2 Bahan Pembuatan Ekstrak

Bahan yang digunakan pada pembuatan ekstrak etanol daun sirsak ialah:

1. Daun sirsak (*Annona muricata* Linn); dan
2. Etanol 96%

3.4.3 Bahan Pembuatan Preparat

Bahan untuk pembuatan preparat histopatologi ialah:

1. Larutan formalin 10% untuk fiksasi;
2. Xilol;
3. Akuades;
4. Pewarna *haematoxylin eosin*;
5. Paraffin; dan
6. Alkohol

3.4.4 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Neraca analitik *Meter Toledo* untuk menimbang berat tikus;
2. Botol minum tikus;
3. Tempat makan tikus 4.
4. Sduit oral 1 cc dan 3 cc;
5. Sonde atau skalpel tikus dengan diameter 2 mm;
6. Minor set untuk membelah perut tikus (laparotomi);
7. Kandang tikus uji coba;
8. Kapas dan alkohol;
9. Gelas ukur dan pengaduk; dan
10. Alat pemeriksaan mikroskopis: mikroskop, gelas objek, cairan emersi, gelas ukur, evaporator.

3.4.5 Alat Pembuatan Ekstrak

Alat yang digunakan selama tahap pembuatan ekstrak ialah:

1. Mesin penggiling;

2. Labu erlenmeyer;
3. Kertas saring;
4. *Rotary vacuum evaporator*;
5. Gelas Ukur; dan
6. Pipet Ukur;

3.4.6 Alat Pembuatan Ekstrak

Alat yang digunakan pada tahap pembuatan preparat ialah:

1. *Object glass*;
2. *Deck glass*;
3. *Embedding cassette*;
4. *Rotary microtome*;
5. Oven;
6. *Waterbath*;
7. *Platening table*;
8. *Autochomic processor*;
9. *Staining rack*;
10. *Staining jar*;
11. *Histoplast*; dan
12. *Paraffin dispenser*.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Adaptasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebanyak 25 ekor yang telah memenuhi kriteria inklusif dan eksklusif dibagi menjadi 5 kelompok kemudian diadaptasi selama 1 minggu di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan diberi pakan serta minum standar, setelah itu dilakukan penimbangan berat badan dan penandaan untuk menentukan pembagian perlakuan pada setiap kelompoknya.

3.5.2 Pemberian *Metanil Yellow*

Pemberian *metanil yellow* ke tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan BB 200g yang dilarutkan ke dalam 1 ml aquades dan dilakukan secara peroral selama 30 hari. Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah 3000 mg/kgBB/hari (Sarkar and Ghosh, 2012).

3.5.3 Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn)

Tahap pembuatan ekstraksi daun sirsak menggunakan metode maserasi atau perendaman (Hermawan *et.al.*, 2013). Tahap yang pertama yaitu mencuci bersih daun sirsak dengan air mengalir, kemudian ditiriskan dengan diangin-anginkan. Kemudian daun sirsak dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 4 jam dengan tujuan untuk menghilangkan kandungan air pada daun sirsak.

Setelah dikeringkan daun sirsak diblender dan diayak sampai menjadi serbuk. Setelahnya, tahap ekstraksi dimulai dengan maserasi, dimana serbuk daun sirsak dimasukkan ke dalam botol bersama dengan etanol

96%. Kemudian botol ditutup dan dibiarkan selama 5 hari sambil diaduk satu kali dalam sehari, lalu disaring. Tahap yang terakhir adalah penguapan, tahap ini dilakukan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental etanol daun sirsak (Swintari *et.al.*, 2017). Setelah pembuatan ekstrak selesai, selanjutnya dilakukan pemberian ekstrak etanol daun sirsak terhadap tikus dengan dosis 100 mg/kgBB/hari (Kelompok P1), dosis 200 mg/kgBB/hari (Kelompok P2), dan dosis 400 mg/kgBB/hari (Kelompok P3) selama 30 hari (Sundalangi, 2016).

3.5.4 Alur Penelitian

A. Sampel tikus sebanyak 25 ekor dilakukan adaptasi selama 7 hari setelah itu dikelompokkan menjadi 5 kelompok:

- 1) Kelompok K- hanya diberi pakan dan akuades selama 30 hari.
- 2) Kelompok K+ diberikan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari selama 30 hari.
- 3) Kelompok P1 diberikan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 100 mg/kgBB/hari selama 30 hari.
- 4) Kelompok P2 diberikan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 200 mg/kgBB/hari selama 30 hari.
- 5) Kelompok P3 diberikan *metanil yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB/hari dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dengan dosis 400 mg/kgBB/hari selama 30 hari.

- B. Setelah perlakuan selama 30 hari, dilakukan anastesi pada kelompok sampel menggunakan eter atau kloroform dan dilakukan laparotomi pada tikus lalu dan diambil bagian gaster untuk dibuat preparat histopatologi dengan metode paraffin dan pewarnaan HE.
- C. Sampel gaster akan difiksasi dengan larutan formalin 10% kemudian dikirim ke Laboratorium Anatomi, Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan sediaan akan dilakukan oleh staf ahli pada Laboratorium tersebut.
- D. Metode baku pemeriksaan histopatologis meliputi:

1) *Fixation*

Melakukan fiksasi spesimen berupa potongan organ gaster yang telah dipilih dengan larutan formalin 10%. Kemudian lakukan pencucian spesimen dengan air mengalir.

2) *Trimming*

Membuat irisan potongan gaster ± 3 mm lalu memasukkan potongan organ gaster tersebut ke dalam *embedding cassette*.

3) Dehidrasi

Menuntaskan air dengan meletakkan *embedding cassette* pada kertas tisu untuk menghilangkan air. Selanjutnya dilakukan perendaman organ gaster dengan pembagian sebagai berikut:

1. Alkohol 70 % selama 30 menit
2. Alkohol 96 % selama 30 menit
3. Alkohol 96 % selama 30 menit
4. Alkohol 96 % selama 30 menit

5. Alkohol absolut selama 60 menit
6. Alkohol absolut selama 60 menit
7. Alkohol absolut selama 60 menit
8. Alkohol *xylol* 1 : 1 selama 30 menit

4) *Clearing*

Membersihkan sisa alkohol menggunakan Xilol I, II, III masing-masing selama 1 jam.

5) *Impregnasi*

Impregnasi dengan menggunakan paraffin I, II, III selama 2 jam.

6) *Embedding*

- a) Sisa Parafin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan di usap dengan kapas.
- b) Parafin diletakkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan kedalam oven dengan suhu diatas 58°C.
- c) Parafin cair dituangkan ke dalam pan.
- d) Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
- e) Pan dimasukkan ke dalam air.
- f) Parafin yang berisi potongan organ dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6°C beberapa saat.
- g) Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skapel/pisau hangat.
- h) Siap dipotong dengan mikrotom.

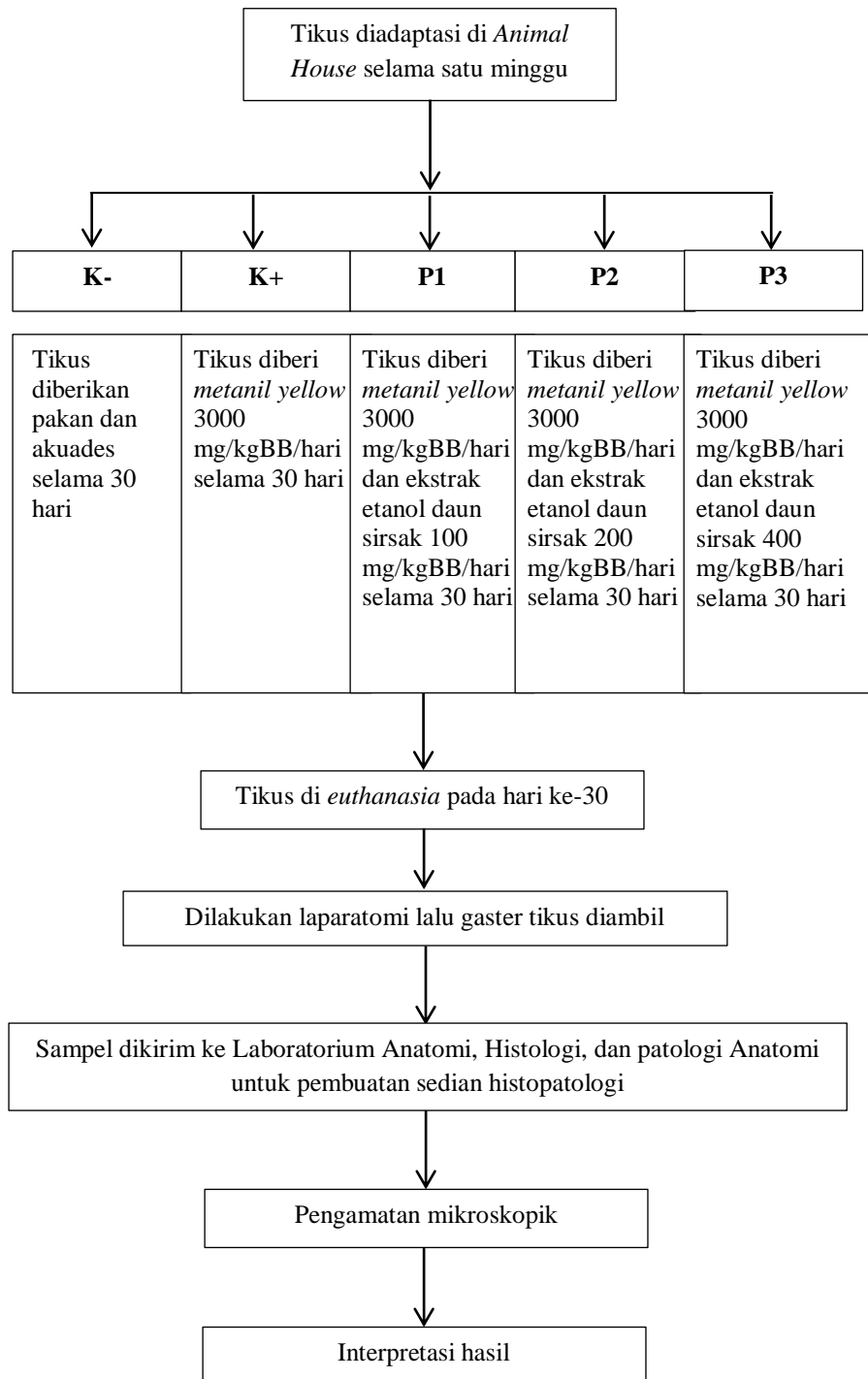
7) *Cutting*

Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin. Lakukan pemotongan kasar terlebih dahulu, dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Memilih lembaran potongan yang paling baik, apungkan pada air dan hilangkan kerutan dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing. Pindahkan lembaran jaringan tersebut ke dalam *waterbath* selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Dengan gerakan menyendok ambil lembaran jaringan dengan slide bersih dan tempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah untuk mencegah agar tidak ada gelembung udara dibawah jaringan. Terakhir menempatkan slide yang berisi jaringan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

8) *Staining* dengan HE.

- a) Jaringan yang telah selesai dibuat preparat, selanjutnya dipilih yang terbaik dan untuk pewarnaan HE dengan sebagai berikut:
- b) Teteskan xilol I, II, III masing-masing 5 menit.
- c) Kemudian gunakan alkohol absolut I, II, III masing- masing selama 5 menit.
- d) Lalu bilas dengan akuades selama 1 menit.
- e) Preparat organ kemudian dimasukkan dalam zat warna *Harris Hematoxylin* selama 20 menit.

- f) Kemudian dimasukkan kedalam akuades selama 1 menit dengan sedikit digoyangkan.
 - g) Setelah itu celupkan preparat dalam asam alkohol sekitar 2-3 celupan dan bersihkan menggunakan akuades bertingkat masing-masing 1 dan 15 menit
 - h) Preparat selanjutnya diberikan pewarna eosin selama 12 menit.
 - i) Kemudian secara berurutan, memasukkan potongan organ dalam alkohol 96% selama 2 menit, alkohol 96%, alkohol absolut III dan IV masing-masing selama 3 menit.
 - j) Terakhir masukkan ke dalam xilol IV dan V masing-masing 5 menit.
- 9) *Mounting*
- Setelah pewarnaan selesai, letakkan preparat pada tempat yang datar dan di atas kertas tisu, kemudian ditetaskan dengan bahan *mounting* dan tutup dengan *cover glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.
- 10) Membaca slide dengan mikroskop.
- Slide diperiksa dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x dan dikirim ke Laboratorium Anatomi untuk di konsultasikan dengan ahli Patologi Anatomi.



Gambar 7. Alur penelitian

3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.6.1 Identifikasi Variabel

Variabel bebas pada penelitian ini adalah kelompok tikus putih yang diberi perlakuan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) dan pemberian *metanil yellow*. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi gaster dengan menilai derajat kerusakan gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi *metanil yellow*.

3.6.2 Definisi Operasional

Tabel 5. Definisi operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Kelompok hewan coba yang diberi perlakuan	Hewan coba yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun sirsak (<i>Annona muricata</i> Linn) yang diinduksi <i>metanil yellow</i>	Sprit cc dan sonde	Hewan coba yang terdiri atas : Kelompok K- = Aquades Kelompok K+ = <i>Metanil yellow</i> 3000 mg/kgBB Kelompok P1 = <i>Metanil yellow</i> 3000 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun sirsak 100 mg/kgBB Kelompok P2 = <i>Metanil yellow</i> 3000 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun sirsak 200 mg/kgBB Kelompok P3 = <i>Metanil yellow</i> 3000 mg/kgBB dan ekstrak etanol daun sirsak 400 mg/kgBB	Kategorik
Histopatologi gaster	Gambaran histopatologi gaster dengan menilai derajat kerusakan gaster tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) jantan galur <i>Sprague dawley</i> akibat pemberian <i>metanil yellow</i> menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100x	Mikroskop cahaya	Skor 0 : Normal Skor 1 : lapisan epitel permukaan gaster masih intak dan terdapat sedikit sel radang Skor 2 : Disrupsi ringan epitel permukaan disertai edem ringan dan infiltrate leukosit atau hemoragik ringan. Skor 3. Destruksi berat epitel permukaan atau nekrosis/ ulkus (Balan, 2015).	Numerik

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik menggunakan program SPSS. Hasil penelitian pertama dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk menganalisis apakah data terdistribusi normal ($p > 0,05$) atau tidak ($p < 0,05$). Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel penelitian kurang dari 50. Analisis data kemudian dilanjutkan dengan menilai homogenitas variansi data dengan menggunakan uji homogenitas *Levenne*. Jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan analisis parametrik, sedangkan jika data terdistribusi tidak normal atau tidak homogen maka dilakukan analisis non-parametrik. Uji parametrik yang dilakukan untuk menilai perbedaan pengaruh antara kelompok K-, K+, P1, P2, dan P3 adalah *One Way ANOVA*. Sedangkan pada uji non-parametrik alternatif yang digunakan adalah *Kruskal Wallis*. Apabila hasil yang telah dilakukan menunjukkan hasil $p < 0,05$ pada *One Way ANOVA*, analisis *Post Hoc LSD* perlu dilakukan. Sedangkan pada uji *Kruskal Wallis*, uji yang dilakukan adalah *Mann-Whitney*.

3.8 Ethical Clearance

Penelitian ini telah diajukan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan disetujui dengan nomor *Ethical Clearance* adalah 1520/UN26.18/PP.05.02.00/2021.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbaikan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap kerusakan gaster tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* akibat pemberian *metanil yellow*.

5.2 Saran

Peneliti lain disarankan ketika pada saat pemilihan organ untuk pemeriksaan mikroskopis dilakukan evaluasi kembali agar dapat terambilnya organ yang terdapat erosi atau ulkus.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Aster JC, Kumar V. 2015. Buku ajar patologi robbins. Edisi ke-9. Singapura: Elsevier Saunders.
- Al-Howiriny T, Alsheikh A, Alqasoumi S, Al-yahya M, Eltahir K, Rafatullah S. 2010. Gastric antiulcer, antisecretory and cytoprotective properties of celery (*Apium graveolens*) in rats. *J Pharmaceutical Biology*. 48(7): 786– 93.
- Almunawati A. 2017. Histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinjeksi formalin (Histopathological changes of rat (*Rattus norvegicus*) kidney injected with formalin). *J Ilmiah Mahasiswa Veteriner*. 1(3): 424-31.
- Am Zuhud E. 2011. Bukti kedahsyatan: sirsak menumpas kanker. *J AgroMedia*. 5(2): 16-17.
- Aminah, Maryam, Baits M, Kalsum U. 2016. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) berdasarkan tempat tumbuh dengan metode peredaman DPPH. *J Fitofarmaka Indonesia*. 3(1): 146-49.
- Anjasmara P, Romdhoni M, Ratnaningsih M. 2017. Pengaruh pemberian rhodamin b peroral subakut terhadap perubahan ketinggian mukosa gaster tikus putih galur wistar. *J Kedokteran Universitas Muhammadiyah Purwokerto* 13(2): 58–62.
- Annisah SN. 2019. Pengaruh ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap histopatologi lambung mencit (*Mus musculus* Linn.) yang diinduksi aspirin. [skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Anthony S, 2014. Pengaruh pemberian methanil yellow peroral dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran histopatologi gaster mencit. [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Ardiansyah. 2015. Bahan tambahan pangan (food additive). *J Ilmu Teknologi Pangan Universitas Bakrie*. 1(2): 20-5.
- Asbanu Y, Wijayati N, Kusumo E. 2019. Identifikasi senyawa kimia ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan uji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. *J of Indonesian Chemical Sciences*. 8(3): 153-60.

- Aziz M, Krisnadi S, Setiabudiawan B, Handono B. 2018. Pengaruh pemberian vitamin D3 terhadap kadar reactive oxygen species (ROS) pada sel PHM1-41 yang mengalami hipoksia. *J Universitas Padjajaran*. 50(3): 194–200.
- Balan T, Hijaz M, Sani M, Ahmad S, Suppaiah V, Mohtarrudin N, Zakaria Z. 2015. Antioxidant and anti-inflammatory activities contribute to the prophylactic effect of semi-purified fractions obtained from the crude methanol extract of *Muntingia calabura* leaves against gastric ulceration in rats. *J of Ethnopharmacology*. 164(7): 1–15.
- Banjarnahor SDS, Artanti N. 2015. Antioxidant properties of flavonoids. *J Medical of Indonesia*. 23(4): 239-44.
- BPOM RI. 2012. Peraturan kepala badan pengawas obat dan makanan Republik Indonesia. 2012. Tentang batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan pewarna. Jakarta: BPOM RI.
- BPOM RI. 2014. Peraturan kepala badan pengawa obat dan makanan Republik Indonesia. tentang pedoman uji toksisitas non klinik secara in vivo. Jakarta: BPOM RI.
- Cahyadi W. 2019. Analisis & aspek kesehatan bahan tambahan makanan. Edisi ke-2. Bandung: Bumi Aksara.
- Egha C, 2014. Pengaruh pemberian methanil yellow peroral dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran histopatologi duodenum mencit. [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Eroschenko VP. 2010. Atlas histologi diFiore dengan korelasi fungsional. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Gavakumulya Y. 2015. Analysis of bioactive phytochemicals present in ethanolic extract of leaves of *Annona muricata*: A further evidence for its medicinal diversity. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research (IJPPR)*. 7(5): 300-4.
- Guyton AC, Hall JE. 2014. Buku ajar fisiologi kedokteran. Edisi ke-11. Jakarta: EGC.
- Haerani A, Chaerunisa AY, Subarnas A. 2018. Antioksidan untuk kulit. *J Farmaka*. 16(2): 59-67.
- Hardi K, Huda A. 2015. Aplikasi asuhan keperawatan berdasarkan diagnosa medis. Edisi ke-2. Yogyakarta: Mediaction.
- Haris R. 2016. Pengaruh pemberian injeksi ketorolac tromethamine intraperitoneal terhadap gambaran mikroskopis gaster tikus wistar dewasa dengan fraktur kruris. [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Hanriko R, Muhartono, Anggraini DI, Pairul PPB. 2018. Efek protektif jahe putih besar (*Zingiber officinale rosc. var. officinarum*) terhadap ulkus gaster tikus putih jantan galur sprague dawley yang diinduksi piroksikam. *J Kedokteran Unila*. 2(2): 118-23.
- Hermawan GP, Laksono H. 2013. Ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata L.*) menggunakan pelarut etanol. *J Teknologi Kimia dan Industri*. 2(2): 111-15.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Peraturan menteri kesehatan RI nomor 239 tahun 2014 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. Peraturan menteri kesehatan RI nomor 033 tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan. Jakarta: Kemenkes RI.
- Koeswardhani. 2020. Dasar-dasar teknologi pengolahan pangan. *J Teknologi Pengolahan Pangan*. 1(3): 38-47.
- Kooti W. 2014. A review on medicinal plant of *Apium graveolens*. *J Advanced Herbal Medicine*. 1(1): 48-59.
- Kurniasih N, Kusmiyati M, Sari P, Wafdan R, 2015. Potensi daun sirsak (*Annona muricata Linn*), daun binahong (*Anredera cordifolia (ten) steenis*), dan daun benalu mangga (*Dendriphthoe pentandra*) sebagai antioksidan pencegah kanker. [skripsi]. Bandung: Farmasi Politeknik Kesehatan.
- Li K, Li Q, Han Z, Li J, Gao D, Liu Z, Zheng F. 2018. Alkaloid from angelicae dahuricae inhibits cell growth by inducing apoptosis and increasing caspase-3 activity. *J Laboratory Medicine*. 39(9): 540-6.
- Malole M, Pramono C. 2019. Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium. Edisi ke-1. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Marieb EN, Hoehn K. 2013. Human anatomy & physiology. Edisi ke-9. Boston: Pearson Education.
- Martini FH, Nath JL, Bartholomew EF. 2012. Blood vessels and circulation, fundamentals of anatomy & physiology. Edisi ke-9. Boston: Pearson Education, Inc.
- Mescher AL. 2016. Histologi dasar Junqueira teks & atlas. Edisi ke-12. Jakarta: EGC.
- Moghadamtousi S, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Aji H, Kadir H. 2015. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activity. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(3): 15625-58.

- Moore KL, Dalley AF, Agur AM. 2014. Clinically oriented anatomy. Edisi ke-7. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Nisa S. 2018. Gastritis (Warm-e-meda): a review with unani approach. *International Journal of Advanced Science and Research International*. 3(3): 43-5.
- Nursyah D. 2012. Gambaran siklus estrus tikus putih (*Rattus norvegicus*) ovariektomi yang diberi tepung daging teripang. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mawardi R, Demes N, Purwoko D, Sudarmo A, Zamil F. 2019. Bahan ajar kesehatan lingkungan kimia lingkungan. Edisi ke-17. Jakarta: Kemenkes RI.
- Netter FH. 2016. Atlas anatomi manusia bahasa latin/indonesia Edisi ke- 6. Jakarta: Elsevier.
- Pubchem. 2019. Methanil yellow. Modification of a haematoxylin, eosin, and natural saffron staining method for the detection of connective tissue. *J of Vet Res Sciendo*. 7(2): 125-130.
- Rahayu M, Mahmuda YI. 2016. Identifikasi zat pewarna rhodamin b dan methanyl yellow pada kerupuk. *J Teknologi Laboratorium*. 5(2): 55-8.
- Ratnani RD. 2016. Bahaya bahan tambahan makanan bagi kesehatan. *J Teknik Kimia*. 5(2): 16-22.
- Rizzo DC. 2016. Fundamentals of anatomy and physiology. Edisi ke-13. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Rosalina YK, Adang B. 2018. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan daun sirsak (*annona muricata* L) dengan metode 1,1-difenil-2-pikrylhidrazil (DPPH). *J Partner*. 23(1): 567-574.
- Salempa P. 2016. Uji bioaktivitas senyawa metabolit sekunder ekstrak kloroform kulit batang sirsak (*Annona muricata* Linn). *J Bionature*. 17(1): 37-40.
- Sarkar R, Ghosh AR. 2012. Methanil yellow - an azo dye induced histopathological and ultrastructural changes in albino rat (*Rattus norvegicus*). 7(1): 427-32.
- Sastroasmoro, Sudigdo, Ismael, Sofyan. 2014. Dasar-dasar metodologi penelitian klinis Edisi ke-5. Jakarta: Sagung Seto.
- Saxena B, Sharma S. 2015. Food color induced hepatotoxicity in swiss albino rats (*Rattus norvegicus*). *Toxicology International Journal*. 22(1): 152-7.

- Sengupta P. 2013. The laboratory Rat: Relating its age with human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 4(6): 624-30.
- Setyawati T, Nurjannah A, Azam A. 2015. Manfaat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) sebagai antihiperqlikemia pada tikus wistar diabetik yang diinduksi aloksan. *J Ilmiah Kedokteran Medika Tadulako*. 2(1): 19-30.
- Shibula K, Velavan S. 2015. Determination of phytochemicals in methanolic of *annona muricata* leaf using gc-ms technique. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7(6): 1251-55.
- Shofa OA, Ismail A. 2014. Pengaruh pemberian methanil yellow peroral dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran histopatologi gaster mencit balb/c. [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 2017. Pemeliharaan pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis. *J Universitas Indonesia*. 5(2): 75-7.
- Sudoyo AW, Setiyahadi B, Alwi I, Setiati S. 2014. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-6. Jakarta: Interna Publishing.
- Sundalangi C, Loho L, Kairupan C. 2016. Gambaran histopatologik lambung tikus wistar yang diberikan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) setelah induksi aspirin. [skripsi]. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Swintari NW, Yuliet, Khaerati K. 2017. Aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap kelarutan kalsium batu ginjal secara in vitro. *Galenika Journal of Pharmacy*. 3(1): 34-42.
- Syafitri M, Tejasari M, Tresnasari C. 2017. Pemberian ekstrak daun sirsak jangka panjang menyebabkan cedera jaringan hati yang bersifat reversible. *J Global Medicine & Health*. 1(1): 35-7
- Tarigan CY. 2020. Manfaat antioksidan terhadap aterosklerosis. *J Penelitian Perawat Profesional*. 2(4): 523-8.
- Tortora GJ, Derrickson B. 2012. *Anatomy & physiology*. Edisi ke-13. New Jersey: Jhon Wiley & Sons, Inc.
- Werdhasari A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *J Biotek Medisiana Indonesia*. 3(2): 59-68.
- Widmaier, Raff H, Strang K. 2014. *Vander's human physiology*. Edisi ke-12. United States: John Wiley and Sons, Inc.
- Yu L, Yan J, Sun Z. 2017. D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of inos, cox-2,

pge2 and erk signaling pathways. 15(3): 2339–4632.

Yudha A, 2014. Pengaruh pemberian methanil yellow peroral dosis bertingkat selama 30 hari terhadap gambaran histopatologi hepar mencit. [skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro.

Zakiah N, Yanuarman, Frangki, Munazar. 2017. Aktifitas hepatoprotektif ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kerusakan hati tikus yang diinduksi dengan parasetamol. *J Aceh Nutrition*: 12(1): 25-31.

Zein R. Ramadhani P. Aziz H. Suhaili R. 2019. Biosorben cangkang pensil (*Corbicula moltkiana*) sebagai penyerap zat warna metanil yellow ditinjau dari pH dan model kesetimbangan adsorbs. *J Litbang Industri*. 9(1): 15-22.

Zuraida R, Saputra O, Sahli Z, Aprilia A. 2017. Faktor-faktor yang mempengaruhi pedagang jajanan anak sekolah dasar terhadap penggunaan pewarna methanil yellow. *J Agromedicine Kedokteran Universitas Lampung*. 4(1): 1–6.