

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN BERENERGI TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG
TIKUS PUTIH (*Rattus nirvegicus*) JANTAN
DEWASA GALUR SPRAGUE DAWLEY**

(Skripsi)

**Oleh
DANANG SAMUDRO WICAKSONO
1618011186**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN BERENERGI TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG
TIKUS PUTIH (*Rattus nirvegicus*) JANTAN
DEWASA GALUR SPRAGUE DAWLEY**

Oleh
DANANG SAMUDRO WICAKSONO
1618011186

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN

Pada

Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

THE EFFECT OF ENERGY DRINKS CONSUMPTION ON GASTRIC HISTOPATHOLOGY CHANGES OF MALE *Sprague Dawley* WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

DANANG SAMUDRO WICAKSONO

Background : Energy drinks contain many chemicals such as caffeine, taurine and inositol. These chemicals stimulate the gastric to produce gastric acid, which will cause an increase in gastric acid production. This can reduce the resistance function of the gastric and will cause tissue damage. The aim this research is to determine the effect of energy drinks consumption on gastric histopathology changes of male Sprague dawley white rats (*Rattus norvegicus*) caused by high caffeine content in energy drinks

Method : The sample consisted of 25 male rats which were divided into 2 control groups and 3 treatment groups. For the control groups, K1 was given water and food, and the K2 group was given 1,8 ml ethanol 40%. While the treatment groups (P1,P2, and P3) were given energy drinks with various successive doses namely 2.7 ml/day orally, 3.4 ml/day orally, 4.1 ml/day orally. Then the rats were terminated and their stomach organs were taken for microscopic observation. Then the data were analyzed using the Kruskal-Wallis method and continued with the Post Hoc Mann Whitney test.

Conclusion : There are bad effect in the form of desquamation and erosion on the gastric mucosal cells of male Sprague dawley white rats (*Rattus norvegicus*), which he does by serving high doses of energy drinks.

Keywords : Effects of energy drinks, caffeine, gastric mucosa, taurine

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN BERENERGI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus nirvegicus*) JANTAN DEWASA GALUR SPRAGUE DAWLEY

Oleh

DANANG SAMUDRO WICAKSONO

Latar Belakang: Minuman berenergi memiliki kandungan banyak bahan kimia seperti kafein, taurine, dan inositol yang tinggi. Bahan kimia tersebut merangsang pada lambung untuk memproduksi asam lambung, yang akan menyebabkan peningkatan produksi asam lambung. Hal ini dapat menurunkan fungsi ketahanan lambung dan akan menyebabkan kerusakan jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek pemberian minuman berenergi terhadap gambaran histopatologi lambung yang disebabkan kandungan kafein yang tinggi pada minuman berenergi.

Metode: Sampel terdiri dari 25 ekor tikus jantan yang dibagi dalam 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Untuk kelompok kontrol K1 diberikan aquades dan pangan, serta kelompok K2 diberikan etanol 40% 1,8 ml. Sedangkan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) diberi minuman energi dengan berbagai dosis berturut-turut yaitu 2,7 ml/hari peroral, 3,4 ml/hari peroral, 4,1 ml/hari peroral. Pemberian minuman energi dengan berbagai dosis tersebut dilakukan selama 14 hari. Lalu tikus diterminasi dan diambil organ lambungnya untuk diperiksa secara mikroskopis. Kemudian data dianalisis dengan menggunakan metode *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Mann Whitney*

Hasil Penelitian: Hasil rerata skoring yang didapatkan pada penelitian ini yaitu K=0,08; P1=0,32; P2=0,76; dan P3=1,6. Hasilnya adalah terdapat pengaruh yang bermakna terdapat gambaran histopatologi mukosa lambung pada kelompok K1, P1, P2, dan P3. Namun P1 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok K1

Kesimpulan: Terdapat pengaruh buruk berupa deskuamasi dan erosi pada sel mukosa lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang dilakukan pemberian minuman energi dengan dosis yang tinggi.

Kata Kunci: Efek minuman energi, kafein, mukosa lambung, taurine.

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN BERENERGI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus nirvegicus*) JANTAN DEWASA GALUR *sprague dawley***

Nama Mahasiswa : **Danang Samudro Wicaksono**

No. Pokok Mahasiswa : 1618011186

Program Studi : PENDIDIKAN DOKTER

Fakultas : KEDOKTERAN



dr. Tri Umiana Sholeha, S.Ked., M.Kes
NIP. 19760903 200501 2 001

dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm
NIP. 19841020 200912 2 005

2. Plt. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T
NIP. 19740705 200003 1 001

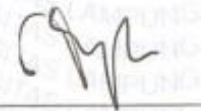
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes**



Sekretaris : **dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm**



Penguji Bukan Pembimbing : **dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes**



2. Plt. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T
NIP. 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **14 Juni 2023**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Danang Samudro Wicaksono
NPM : 1618011186
Tempat, Tanggal Lahir : Bandar Lampung, 10 September 1998
Alamat : Jl. Turi Raya, Bandar Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "**PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN BERENERGI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus nirvegicus*) JANTAN DEWASA GALUR *sprague dawley***" adalah benar hasil karya penulis, bukan hasil menjiplak atau hasil karya orang lain. Jika dikemudian hari ada hal yang melanggar dari ketentuan akademik universitas, maka saya bersedia bertanggung jawab dan diberikan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat oleh penulis dengan sebenar-benarnya, atas perhatian dan kerja samanya penulis ucapkan terimakasih.

Bandar Lampung, 1 Juni 2023
Pembuat pernyataan,



Danang Samudro Wicaksono
1618011186

RIWAYAT HIDUP

Penulis memiliki nama lengkap Danang Samudro Wicaksono. Penulis dilahirkan di Kota Bandar Lampung pada tanggal 10 September 1998 sebagai anak empat dari tujuh bersaudara dari Ayahanda Suharno dan Ibunda Endarwati.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) di TK Dharma Wanita Persatuan UNILA pada tahun 2004. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD N 1 Rajabasa Raya tahun 2010, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPS Tri Sukses tahun 2013, dan Sekolah Menengah Atas di SMAS Tri Sukses tahun 2016.

Pada tahun 2016 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama di dunia perkuliahan, penulis aktif di beberapa Organisasi kemahasiswaan, diantaranya Resimen Mahasiswa (MENWA) Raden Intan Batalyon 201/Pemukul Universitas Lampung (Unila), organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina sebagai kepala bidang humas, dan kepengurusan PMPATD Pakis Recue Team sebagai anggota bidang Pecinta Alam.

*Menolong Sesama Hidup, dan Taqa Kepada
Tuhan yang Maha Esa*

*"Tolong-menolonglah Kamu dalam Kebaikan dan Taqwa,
dan jangan tolong-menolong dalam dosa dan permusuhan."*

(Q.S. Al-Maidah [5]:2)

SANWACANA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarokatuh,
Alhamdulillahirobbilalamin puji syukur atas kehadiran Allah SWT berkat rahmat serta karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat beserta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Skripsi penulis berjudul “PENGARUH PEMBERIAN MINUMAN BERENERGI TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS PUTIH (*Rattus nirvegicus*) JANTAN DEWASA GALUR *sprague dawley*” ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapatkan masukan, bantuan, saran, bimbingan, serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa syukur dan terimakasih sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Ibu dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA., selaku Kepala Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. Ibu Dr. dr. Khairunnisa Berawi, S. Ked., M. Kes., AIFO., selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;

5. Ibu dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes selaku pembimbing utama penulis. Terimakasih telah meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya di tengah kesibukan beliau untuk membimbing penulis dalam banyak hal serta selalu memberikan semangat dan dorongan kepada penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini;
6. Ibu dr. Rasmi Zakiah Oktarlina, S.Ked., M.Farm., selaku pembimbing kedua penulis. Terimakasih atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, ilmu, kesabaran, waktu di tengah kesibukan beliau, tenaga, serta saran bagi penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini;
7. Bapak dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes., selaku pembahas. Terimakasih atas nasihat, bimbingan, ilmu, waktu di tengah kesibukan beliau, dan kritik yang membangun bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih atas kesabarannya dalam memberikan nasehat kepada penulis;
8. dr. Hanna Mutiara, S.Ked., M.Kes, selaku pembimbing akademik penulis dari semester satu hingga semester akhir yang sudah memberikan banyak saran dan masukan mengenai kehidupan perkuliahan;
9. Seluruh staf Dosen FK Unila, yang telah bersedia memberikan ilmu, pembekalan, motivasi dan bantuan untuk mewujudkan cita-cita yang dimiliki oleh penulis;
10. Yang teristimewa dan tidak tergantikan kedua orangtua saya, Ibu Endarwati dan Bapak Prof. Drs. Ir. Suharno, Ph.D., IPU., ASEAN.Eng., yang sangat saya cintai dengan penuh ketulusan hati. Semoga selalu Allah SWT limpahkan kesehatan serta kebahagiaan untuk dunia dan akhirat kelak. Terimakasih atas doa, kasih sayang, dukungan, nasehat serta perhatian yang bak tiada akhir. Terimakasih atas perjuangan dan kesabaran sehingga penulis mampu bertahan sampai saat ini;
11. Kakak, adik, ponakan tercinta yang selalu bersabar dan tetap menyemangati, menasehati, memberi keceriaan. Semoga selalu Allah SWT berikan kemudahan dalam segala cita-cita yang di doa dan perjuangkan segera tercapai.
12. Seluruh keluarga tercinta yang selalu bersabar dan tetap menyemangati dan menasehati.
13. Terimakasih teruntuk **16 Wisuda** (Alka, Angela, Arif, Billi, Eci, Farid, Ilma,

Nadia, dan Yovani) teman-teman, mentor, pengingat, seperjuangan, yg sudah selalu sabar dan mau direpotkan. Semoga selalu Allah SWT berikan kemudahan dalam segala cita-cita yang di doa dan perjuangkan segera tercapai.

14. Terimakasih teruntuk **Mba Aulia Ghina Sabilla** selaku pembimbing, mentor, dan pengingat yg sudah selalu sabar dan mau direpotkan. Semoga selalu Allah SWT berikan kemudahan dalam segala cita-cita yang di doa dan perjuangkan segera tercapai.
15. Teman-teman semua tercinta yang sudah banyak sekali perjuangan, pengorbanan serta dorongan moral maupun moril sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
16. Seluruh pihak yang sudah memberikan bantuan dan doa kepada penulis selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Sebagai penutup penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Meski belum sempurna penulis sangat berharap semoga penelitian yang dilakukan ini dapat bermanfaat bagi masyarakat luas. Terimakasih kepada berbagai pihak yang telah membantu, semoga kita semua selalu berada dalam lindungan Allah SWT.

Wassalamualaikum wr.wb

Bandarlampung, 14 Juni 2023

Penulis,

Danang Samudro Wicaksono

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitia	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Minuman Berenergi	4
2.2 Lambung	7
2.2.1 Anatomi dan Fisiologi Lambung.....	7
2.2.2 Histologi Mukosa Lambung.....	9
2.2.3 Patogenesis Iritasi Mukosa Lambung.....	11
2.2.4 Morfologi Iritasi Lambung.....	12
2.3 Tikus Putih.....	13
2.4 Kerangka Teori	14
2.5 Kerangka Konsep.....	15
2.6 Hipotesis	15

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian	17
3.2 Tempat dan Waktu.....	17
3.3 Populasi dan Sampel	17
3.3.1 Kriteria Inklusif	19
3.3.2 Kriteria Eksklusif	20
3.3.3 Alur Penelitian.....	20
3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
3.4.1 Alat	21
3.4.2 Bahan.....	21
3.4.3 Alat Pembuatan Preparat Histologi	21
3.5 Prosedur Penelitian	22
3.5.1 Pemilihan Minuman Berenergi	22
3.5.2 Perhitungan Dosis Pemberian Minuman Berenergi	22
3.5.3 Pemeliharaan Hewan Coba	23
3.5.4 Adaptasi Hewan Coba	23
3.5.5 Prosedur Pemberian Inervensi.....	23
3.5.6 Prosedur Pengelolaan Hewan Coba Pasca penelitian.....	24
3.5.7 Prosedur Pengambilan Bagian Lambung	24
3.5.8 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat	24
3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Variabel	28
3.6.1 Identifikasi Variabe	28
3.6.2 Definisi Operasional Variabel	28
3.7 Analisis Data.....	29
3.8 <i>Ethical Clearance</i>	29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian	30
4.1.1 Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung Tikus Putih.....	30
4.1.2 Analisis Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung	34
4.2 Pembahasan	38
4.3 Keterbatasan Penelitian.....	41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai Perkembangan Konsumsi Minuman Berenergi Di Indonesia.....	5
2. Kandungan Zat Aktif Beberapa Minuman Berenergi	6
3. Morfologi <i>Rattus norvegicus</i>	13
4. Definisi Operasional Variabel.....	38
5. Hasil Skoring Preparat	35
6. Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	36
7. Uji Hipotesis <i>Kruskal-Wallis</i>	36
8. Uji <i>Mann-Whitney Post Hoc</i>	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi lambung dari sisi anterior	7
2. Histologi mukosa lambung	10
3. Mekanisme jejas dan pertahanan pada lambung	12
4. Tikus putih (<i>rattus norvegicus</i>) galur sprague dawley.....	14
5. Kerangka teori.....	14
6. Kerangka konsep.....	15
7. Diagram alur penelitian.....	20
8. Mukosa lambung kelompok K1 (perbesaran 400x).....	30
9. Mukosa lambung kelompok K2 (perbesaran 400x).....	31
10. Mukosa lambung kelompok P1 (perbesaran 400x).....	33
11. Mukosa lambung kelompok P2 (perbesaran 400x).....	33
12. Mukosa lambung kelompok P3 (perbesaran 400x).....	34

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minuman berenergi banyak sekali dikonsumsi oleh masyarakat dengan alasan untuk mengatasi kelelahan. Sebagian besar menjatuhkan pilihan mudah dan murah dengan cara mengonsumsi minuman penambah energi. Hasil survei yang telah dilakukan di beberapa negara bagian Amerika dan Asia menunjukkan bahwa minuman berenergi merupakan produk suplemen energi yang dikonsumsi paling banyak jika dibandingkan dengan produk – produk suplemen yang lain, karena minuman berenergi dianggap memiliki efek yang lebih cepat dirasakan dibandingkan suplemen – suplemen multivitamin lain (Alsuni, 2016).

Kementerian Pertanian Republik Indonesia melaporkan konsumsi minuman berenergi di Indonesia tiap tahun kian meningkat, berdasarkan gambaran statistik konsumsi pangan pada 2014 menunjukkan bahwa konsumsi minuman energi per kapita per tahun sebesar 1,59 untuk kemasan 100 mL dan naik 62,22 persen menjadi 2,58 per 100 mL per kapita pada tahun 2017 gambaran tersebut membuktikan bahwasanya minuman berenergi disini telah cukup diminati masyarakat Indonesia. Minuman energi yang dapat dijumpai di pasaran sangat beragam jenis dan mereknya, seperti yang ditawarkan mulai dari Extra Joss, Hemaviton Jreng, Kuku Bima Energy, dan M-150, Hemaviton Energy Drink, Fit Up Tablet, Fit Up Cair, Sakatonik Jreng, Extra Joss, Lipovitan dan lainnya. Merek terbanyak yang dikonsumsi adalah Extra Joss sebesar 44.4%, 19.4% mengonsumsi merek Hemaviton Jreng dan 13.9% mengonsumsi merek Kuku

Bima Energy (Putriastuti dkk., 2007). Padahal jika dilihat dari segi keamanan dan manfaat terhadap kesehatan, masih banyak konsumen yang belum sadar ataupun paham bagaimana cara penggunaan yang tepat, selain terhadap bahaya serta resiko yang ditimbulkannya (Komlim, 2012).

Produk minuman berenergi yang beredar umum di masyarakat disinyalir mengandung satu atau lebih bahan yang dapat menimbulkan resiko buruk bagi kesehatan (Alsuni, 2016). Di lain pihak semakin banyak gangguan kesehatan yang diderita masyarakat yang secara langsung maupun tidak langsung diduga diakibatkan oleh konsumsi minuman berenergi. Beberapa gangguan yang diakibatkan oleh konsumsi minuman berenergi diantaranya yaitu, gangguan pada sistem saraf pusat, kardiovaskuler, dan gastrointestinal. Untuk itu pengetahuan tentang minuman berenergi sangat penting, terutama bagi masyarakat yang mengonsumsi minuman berenergi sebagai minuman suplemen (Suharjono dkk., 2015).

Minuman suplemen berenergi termasuk ke dalam minuman suplemen yang didefinisikan sebagai minuman yang mengandung vitamin, mineral serta stimulant seperti kafein, taurin, varian bentuk ginseng, *maltodextrin*, *carnitine*, *creatine* (Wikipedia, 2017). Pada produk ini ditambahkan zat-zat tertentu yang jumlahnya cukup tinggi untuk dikonsumsi, sehingga dapat dinilai dapat meningkatkan energi tubuh. Sumber lainnya yang juga mempengaruhi kecepatan reaksi adalah kandungan zat stimulant seperti kafein dan taurin (Sepkowitz, 2013).

Keluhan yang timbul saat mengonsumsi minuman mengandung kafein misalnya perut terasa sakit atau kembung (Angkow dkk., 2014). Derajat keasaman (pH) pada minuman yang mengandung tinggi kafein mencapai 3-4 (sangat asam). Hal tersebut dapat menurunkan fungsi mukosa lambung yang lama kelamaan dapat menimbulkan kerusakan mukosa lambung yang secara histologi ditandai dengan adanya inflamasi, erosi, hiperemia, dan penipisan mukosa lambung (Kuswandi dkk., 2017). Pencegahan yang perlu dilakukan

masyarakat agar tidak terjadi efek samping atau iritasi pada lambung yaitu dengan cara menghindari minuman tinggi kafein, menghindari jamu jangka panjang, dan menghindari konsumsi obat-obat sembarang (Sri, 2020).

Berdasarkan data diatas, yaitu ditemukan adanya keluhan yang timbul berupa perut terasa sakit dan kembung, maka peneliti akan mencoba untuk meneliti lebih lanjut tentang pengaruh pemberian minuman berenergi terhadap gambaran histopatologi mukosa lambung tikus putih (*Rattus nirvegicus*) jantan dewasa galur *Sprague dawley*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah “Apakah terdapat pengaruh pemberian minuman berenergi terhadap gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus nirvegicus*) jantan dewasa galur *Sprague dawley* ?”

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian minuman berenergi terhadap mukosa lambung pada tikus putih (*Rattus nirvegicus*).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat praktis kepada berbagai pihak antara lain; mengetahui pengaruh konsumsi minuman berenergi yang berlebihan terhadap lambung secara histologi (mikroskopis) dan sebagai sumber acuan yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Berenergi

Peredaran minuman berenergi di Indonesia selalu mengalami peningkatan, baik dalam hal jenis maupun jumlah produk tiap jenis. Pada beberapa nama merek minuman energi yang tidak asing di dunia periklanan antara lain Extra joss, M-150, Kratingdaeng, dan Hemaviton. Pada beberapa kelompok masyarakat dengan profesi tertentu, seperti sopir dan petugas jaga malam biasanya cukup bersahabat dengan minuman berenergi sebagai suplemen tambahan, agar optimal dalam menjalani pekerjaannya. Padahal dari segi keamanan dan manfaat terhadap kesehatan, masih banyak konsumen yang belum sepenuhnya sadar akan bahaya serta resiko yang ditimbulkannya. Produk minuman berenergi yang beredar disinyalir mengandung satu atau lebih bahan yang dapat menimbulkan resiko penyakit gagal ginjal kronik dan tukak lambung pada pengonsumsinya (Alsuni, 2016). Cukup banyak zat aktif yang terkandung dalam minuman berenergi tersebut, antara lain adalah guarana, taurin, variasi bentuk ginseng, maltodextrin, carnitine, ginkgo biloba, inositol, nicotinamid, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B6 dan kafein yang tinggi atau bahkan jumlahnya tidak diketahui (Sepkowitz, 2013).

Mengonsumsi minuman berenergi sebagai suplemen sudah menjadi gaya hidup modern tanpa mengenal batas usia. Banyak kesalahan dalam pemahaman khasiatnya. Asupan gizi yang paling bagus yaitu melalui makanan sehari-hari. Pengetahuan masyarakat terhadap minuman berenergi yang menjadi masalah adalah bahwa minuman ini dianggap masyarakat sebagai penambah tenaga

yang di butuhkan oleh tubuh kita sesperti namanya (Sari, 2014). Jika tubuh mengalami kelelahan yang diperlukan adalah istirahat, bukan meminum minuman suplemen berenergi, sebab selain mengandung kafein dan karbohidrat, minuman itu yang mengandung taurin yang memblok kerja saraf sehingga memperlambat kerja saraf (Puspitasari dkk., 2015).

Menurut hasil berbagai survey minuman suplemen berenergi dikonsumsi oleh remaja sekitar 30-50% remaja dan dewasa muda. Di Amerika survey pada tahun 2007 dilaporkan sekitar 5448 orang mengalami overdosis kafein, 40% diantaranya 46% pada usia dibawah 19 tahun. Seringkali pada sebagian besar minuman berenergi ditemukan adanya kandungan kafein yang tinggi atau bahkan jumlahnya tidak diketahui. Minuman ini dilaporkan oleh berbagai asosiasi kesehatan memiliki dampak buruk pada kesehatan yang serius khususnya pada anak-anak, remaja, dan dewasa muda dengan keluhan seperti diabetes, kelainan jantung, gangguan emosi dan gangguan perilaku (Alsuni, 2016). Berdasarkan data statisti konsumsi pangan Republik Indonesia 2011 sampai dengan tahun 2015 terekam oleh Kementrian Pertanian dengan pertumbuhan rata-rata sebesar 31.46 % per tahun. Data konsumsi minuman energi tersebut dapat dilihat dalam tabel 1.

Tabel 1. Perkembangan Konsumsi Minuman Berenergi Di Indonesia 2012-2016

Tahun	Konsumsi (juta pcs)	Pertumbuhan per tahun (%)
2011	24.552,05	26,56%
2012	31.834,17	33,72%
2013	35.163,01	35,09%
2014	36.351,15	35,79%
2015	42.021,09	43,81%
Rata-rata pertumbuhan konsumsi per tahun		31,64%

Sumber data : Kementrian Pertanian Republik Indonesia 2017

Pada produk minuman berenergi ini ditambahkan zat-zat tertentu yang dapat meningkatkan energi tubuh. Zat lain yang juga dapat mempengaruhi kecepatan

pada reaksinya adalah zat stimulant yang terkandung di dalamnya seperti seperti kafein dan taurin. Kedua zat ini berfungsi untuk memperlancar metabolisme. Kombinasi taurin dan kafein dalam minuman berenergi bekerja dengan cara merangang sistem saraf pusat untuk memicu reaksi katabolisme (reaksi untuk menghasilkan energi) di otot. Mekanismenya melalui pengaktifan kerja saraf yang menghasilkan percepatan denyut jantung untuk memompa darah dan oksigen, sambil menstimulasi peningkatan kadar gula darah tubuh (Puspitasari dkk., 2015).

Minuman berenergi memiliki tujuan untuk memberikan konsumennya peningkatan energi dengan mengkombinasi zat-zat stimulant termasuk kafein, ekstrak herba seperti gingseng, vitamin B, dan asam amino seperti taurine. Menurut beberapa penelitian dijumpai bahwa kandungan kafein dalam minuman berenergi merupakan pemicu terjadinya efek peningkatan energi. Menurut penelitian, dikatakan bahwa dosis kafein yang minimal sebanyak 12.5-100 mg dapat menyebabkan peningkatan prestasi kognitif dan mood (Liszt dkk., 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Riesenhuber, menyatakan bahwa kafein dalam minuman berenergi akan menyebabkan diuresis. Beberapa penelitian menunjukkan konsumsi kafein yang akut menurunkan sensitivitas insulin dan meningkatkan rata-rata tekanan darah arteri (Riesenhuber dkk., 2016). Konsumsi kafein dan taurine yang tinggi dihubungkan dengan nyeri lambung kronik harian terutamanya dikalangan wanita berumur kurang dari 40 tahun. Asupan kafein dan taurine secara berlebihan dapat berhubungan dengan system saraf pusat, kardiovaskuler, gastrointestinal. Kafein dan taurin dalam minuman berenergi akan memberi efek sesuai yang diinginkan pada penggunaanya seperti meningkatkan konsentrasi dan memori secara cepat namun dapat menimbulkan banyak efek samping yang berbahaya (Brache dkk, 2014).

Tabel 2. Kandungan Zat Akif Beberapa Minuman Berenergi

No	Kandungan	Jenis Minuman Berenergi			
		Ekstra Joss	Kratin-deng	M-150	Hemavi-ton

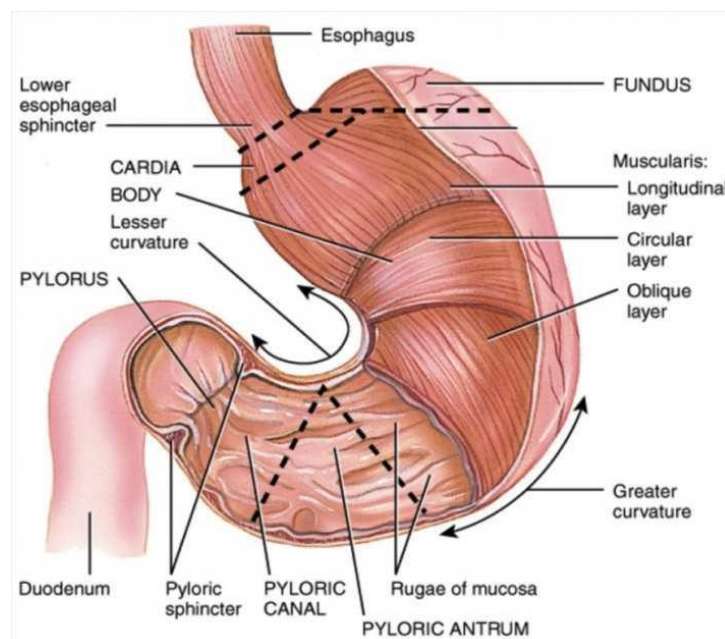
1	Taurin (mg)	1000	1000	800	1000
2	Kafein (mg)	50	80	-	50
3	Inositol (mg)	50	50	50	50
4	Ginseng (mg)	20	-	-	20
5	Nicotinamid (mg)	20	20	20	18
6	Vit B1	10	-	-	-
7	Vit B2	5	5	5	-
8	Vit B6	5	-	-	-

Sumber data : Badan Pengawasan Obat dan Makanan 2010

2.2 Lambung

2.1.1 Anatomi dan Fisiologi Lambung

Lambung adalah organ berbentuk J, terletak pada bagian superior kiri rongga abdomen dibawah diafragma. Semua bagian, kecuali sebagian kecil, terletak sebelah kiri garis tengah. Ukuran dan bentuk setiap individu bervariasi. Secara anatomi, lambung terdiri dari kardia, fundus, korpus, dan pylorus (Moore dkk., 2013).



Gambar 1. Anatomi Lambung dari sisi anterior (Paulsen dkk., 2010)

Fungsi lambung antara lain, penyimpanan makanan, produksi kimus, digesti protein, produksi mucus dan produksi faktor intrinsik, suatu glikoprotein yang disekresi sel parietal. Sekresi kelenjar lambung menurut bagian-bagian histologi lambung :

- 1) Kelenjar kardia hanya mensekresi mucus
- 2) Kelenjar fundus-korpus terdiri dari sel utama (*chief cell*) mensekresi pepsinogen, Sel parietal mensekresi asam klorida (HCl) dan faktor intrinsik, serta sel leher mukosa mensekresi mucus.
- 3) Kelenjar pilorus di antrum pilorus mensekresi mukus dan gastrin (Chalik , 2016).

Tahap-tahap fisiologi sekresi HCl lambung, terdiri dari 3 tahap :

- 1) Tahap sefalik, diinisiasi dengan melihat, merasakan, membaui, dan menelan makan, yang dimediasi oleh aktivitas vagal.
- 2) Tahap gastrik meliputi stimulasi reseptor regangan oleh distensi lambung dan dimediasi oleh impuls vagal serta sekresi gastrin dari sel endokrin (sel G) di kelenjar-kelenjar antral. Sekresi Gastrin dipicu oleh asam amino dan peptida di lumen dan mungkin distimulasi vagal.
- 3) Tahap intestinal terjadi setelah kimus meninggalkan lambung dan memasuki proximal usus halus yang memicu faktor dan hormon. Sekresi lambung distimulasi oleh sekresi gastrin duodenum, melalui sirkulasi menuju lambung. Sekresi dihambat oleh hormon-hormon polipeptida yang dihasilkan duodenum jika PH di bawah 2 dan jika ada makanan berlemak. Hormon-hormon ini meliputi *gastric inhibitory polipeptide* (GIP), sekretin, kolesistokinin dan hormon pembersih enterogastrone (Chalik, 2016).

Semua signal yang menyebabkan aktivasi pompa proton pada sel parietal meliputi, asetilkolin dihasilkan dari aferen *chepalic-vagal* atau vagal lambung, menstimulasi sel-sel parietal melalui reseptor 3 kolinergik-muskarinik menghasilkan peningkatan Ca^{2+} sitoplasma dan berakibat aktivasi pompa proton. Gastrin mengaktivasi reseptor gastrin sehingga

meningkatkan Ca^{2+} sitoplasma dalam sel parietal. sel-sel *Enterochromaffin-like (ECF)* memainkan peranan sentral, gastrin dan aferen vagal menginduksi pelepasan histamin dari sel-sel ECL, yang mana histamin akan menstimulasi reseptor H_2 pada sel-sel parietal. Cara ini dianggap paling penting untuk aktivasi pompa proton. Aktivasi beberapa reseptor pada permukaan sel parietal menghambat produksi asam. Reseptor tersebut meliputi reseptor somatostatin, prostaglandin seri E, dan faktor pertumbuhan epidermal (Sherwood, 2014).

2.1.2 Histologi Mukosa Lambung

Lambung terdiri dari beberapa lapisan dari sebelah dalam yaitu tunika mukosa (epitel, lamina propria, muskularis mukosa), submukosa, tunika muscularis, dan tunika serosa (Mescher, 2013).

Tunika mukosa pada pembagian lain terdiri dari 2 bagian yaitu bagian foveolar superfisial dan bagian kelenjar, yang lebih dalam. Bagian foveolar secara keseluruhan relatif seragam, meliputi sel-sel epitel permukaan yang juga melapisi lubang-lubang yang menuju ke dalam lekukan berbentuk corong yang disebut sumuran gaster. Sel-sel epitel permukaan merupakan epitel kolumnar simpleks non goblet mensekresi lendir dan bersama-sama membentuk selubung sekretorik. Pada epitel bagian pilorus melanjutkan diri ke epitel kolumnar simpleks duodenum. Bagian kelenjar yang lebih dalam menunjukkan perbedaan besar dalam hal ketebalan dan dan kelenjar penyusun pada bagian lambung yang berbeda (Mescher, 2013).

Kelenjar-kelenjar lambung yang terletak di lamina propria tunika mukosa dan bermuara ke dasar sumuran gaster terdiri dari kelenjar fundus, kelenjar korpus-fundus dan kelenjar pilorus. Pada tiap kelenjar tubulosa terdiri atas 3 bagian: korpus sebelah dalam, leher ditengah, dan ismus di atas. Melalui ismus, kelenjar terbuka ke dasar sumuran (Mescher, 2013).

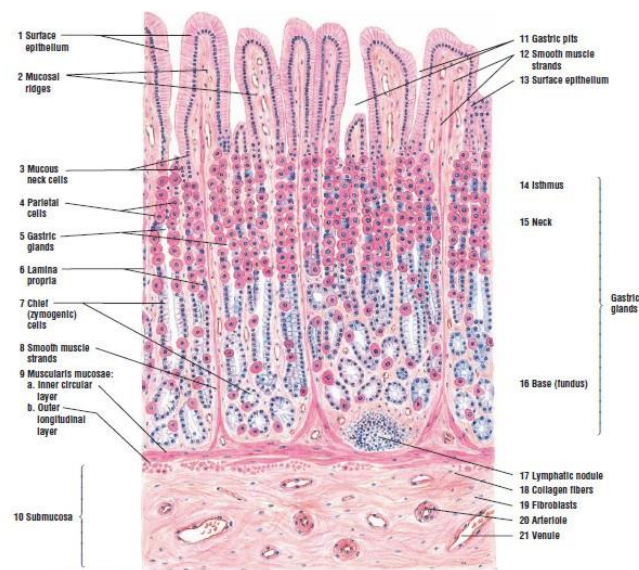


FIGURE 12.9 ■ Stomach: mucosa of the fundus and body (transverse section). Stain: hematoxylin and eosin. Medium magnification.

Gambar 2. Histologi Mukosa Gaster (Eroschenko, 2014).

Kelenjar korpus-fundus terdiri dari sel utama, sel parietal, sel mukosa leher, dan sel endokrin. Sel utama (*Chief cell* = sel zimogenik) terdapat dalam jumlah besar, terutama di korpus kelenjar korpus-fundus. Sel ini mengandung granula zimogen di apical, berisi pepsinogen yang merupakan pendahulu enzim proteolitik pepsin. Sel parietal mensekresi asam klorida (HCl) dari getah lambung dan terdapat dalam jumlah banyak di leher kelenjar. Sitoplasma sel parietal sangat asidofil, karena itu tampak sangat merah pada sajian yang diwarnai hematoksilin dan eosin. Sel mukosa leher terletak diantara sel parietal di leher kelenjar. Sel endokrin dijelaskan di bawah dalam kaitannya dengan penjelasan kelenjar pylorus (Eroschenko, 2014).

Kelenjar pilorus juga berbentuk tubulosa simpleks, terdiri dari sel endokrin dan sel mukosa. Sel-sel endokrin terdiri atas sel-sel yang menghasilkan hormon yang tersebar, biasanya soliter, terdapat di sepanjang traktus gastrointestinal dan di pulau Langerhans pankreas. Pada mukosa gaster manusia, sel-sel endokrin yang berkembang baik adalah sel panghasil gastrin (sel G) yang terletak di sepertiga tengah

kelenjar pilorus dari antrum dan sel panghasil somatostatin (sel D) terdapat di kelenjar antrum pilorus dan sebagian kecil di kelenjar fundus-pilorus. Sel-sel endokrin yang lain diantaranya, sel-sel D (variasi sel D) terdapat di mukosa antrum, yang menghasilkan *vasoactive intestinal peptide* (VIP); sel-sel enterokromafin (sel ECn) berisi serotonin yang terdapat di mukosa antrum disebut juga sel argentafin (Eroschenko, 2014).

Kelenjar Kardia terdapat di bagian kardia, di sekeliling lubang esofagus dan merupakan kelenjar tubular yang bercabang banyak. Sel-selnya adalah mukosa dan menyerupai sel mukosa kelenjar pylorus (Eroschenko, 2014).

Lamina propia berisi jaringan ikat longgar yang kaya dengan sel retikular (fibroblas, sel plasma, limfosit kecil, makrofag, leukosit, eosinofil dan sel mast) juga mengandung banyak pembuluh darah dan sejumlah serat saraf tak bermielin. Tunika muskularis mukosa terdiri atas lapisan sirkuler sebelah dalam dan lapisan longitudinal sebelah luar, karena lapisan tersebut saling bertautan maka mungkin ada 3 atau 4 lapisan (Eroschenko, 2014).

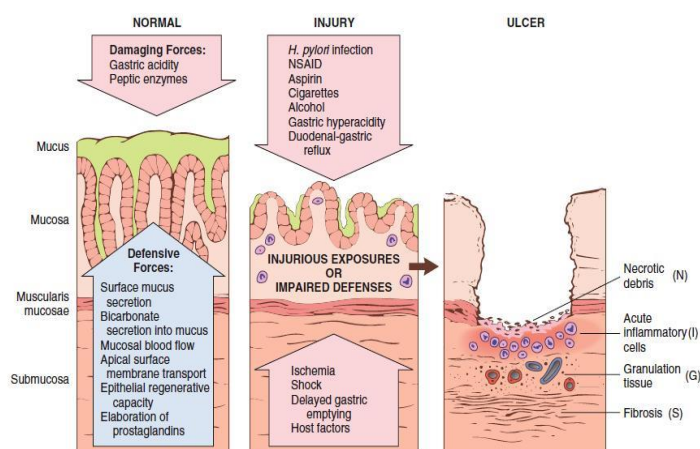
2.1.3 Patogenesis Iritasi Mukosa Lambung

Destruksi mukosa lambung diduga merupakan faktor penting dalam patogenesis iritasi lambung. Aspirin, alkohol, garam empedu, dan zat-zat lain yang mengiritasi mukosa lambung seperti kafein dalam kopi mengubah permeabilitas sawar epitel, memungkinkan difusi balik asam klorida dengan akibat kerusakan jaringan khususnya pembuluh darah. Histamin dikeluarkan, merangsang sekresi asam dan pepsin lebih lanjut dan meningkatkan permeabilitas vaskuler terhadap protein. Mukosa menjadi edema, dan sejumlah besar protein plasma dapat hilang. Mukosa kapiler dapat rusak, mengakibatkan hemoragi intestinalis dan perdarahan (Hartanto dkk., 2020).

2.1.4 Morfologi Iritasi Mukosa Lambung

Iritasi atau erosi lambung adalah kehilangan integritas yang karakteristik dari mukosa lambung yang terbatas pada mukosa dan tidak meluas di bawah muskularis mukosa. Iritasi dapat berupa hiperemi ringan dan edema disertai sekukan sel radang, limfosit, makrofag, kadang-kadang PMN, dan eosinofil pada lapisan permukaan dari lamina propia. Kadang-kadang terjadi pelepasan mukosa setempat dan jarang mengenai seluruh mukosa seperti deskuamasi, erosi, bahkan ulserasi (Price dkk., 2014).

Deskuamasi epitel merupakan kejadian lepasnya sel epitel bagian foveolar superfisial dari permukaan jaringan dan juga merupakan fungsi proteksi bagi usus terhadap respon pertahanan jaringan dari suatu iritan untuk mencegah kerusakan lanjutan (Hambal dkk., 2019). Erosi adalah destruksi superfisial dari area permukaan jaringan yang dapat diakibatkan karena inflamasi, kelukaan, atau sebab lain yang terbatas hingga lamina propia, tidak mencapai mukosa muskularis. Ulser adalah lesi lokal pada kulit atau lapisan mukosa yang menunjukkan epitel superfisial hancur dan jaringan yang lebih dalam yaitu, mukosa muskularis bahkan sampai lapisan submukosa. Lesi ditandai dengan peradangan, nekrosis, dan pengelupasan jaringan yang rusak (Teng dkk., 2013).



Gambar 3. Mekanisme jejas dan pertahanan pada lambung (Price, 2014).

2.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus merupakan hewan mamalia yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium, dikarenakan banyak keunggulan yang dimiliki oleh tikus sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganan (Tolistiawaty dkk., 2014). Tikus (*Rattus norvegicus*) memiliki beberapa galur yang merupakan hasil persilangan sesama jenis, namun demikian galur yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah Sparaque dawley. Adapun taksonomi tikus menurut Tolistiawaty (2014) adalah sebagai berikut ;

- a. Kingdom : Animalia
- b. Filum : Chordata
- c. Sub-filum : Vertebrata
- d. Kelas : Mammalia
- e. Sub-kelas : Theria
- f. Ordo : Rodensia
- g. Sub-ordo : Scuirognathi
- h. Famili : Muridae
- i. Sub Famili : Murinae
- j. Genus : Rattus
- k. Spesies : Rattus Norvegicus

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) mempunyai ciri hidung tumpul, badan pendek, dan besar, mempunyai berat badan yang berkisar sekitar 150–600 gram (Tolistiawaty dkk., 2014)

Tabel 3. Morfologi *Rattus norvegicus* (Depkes RI, 2008).

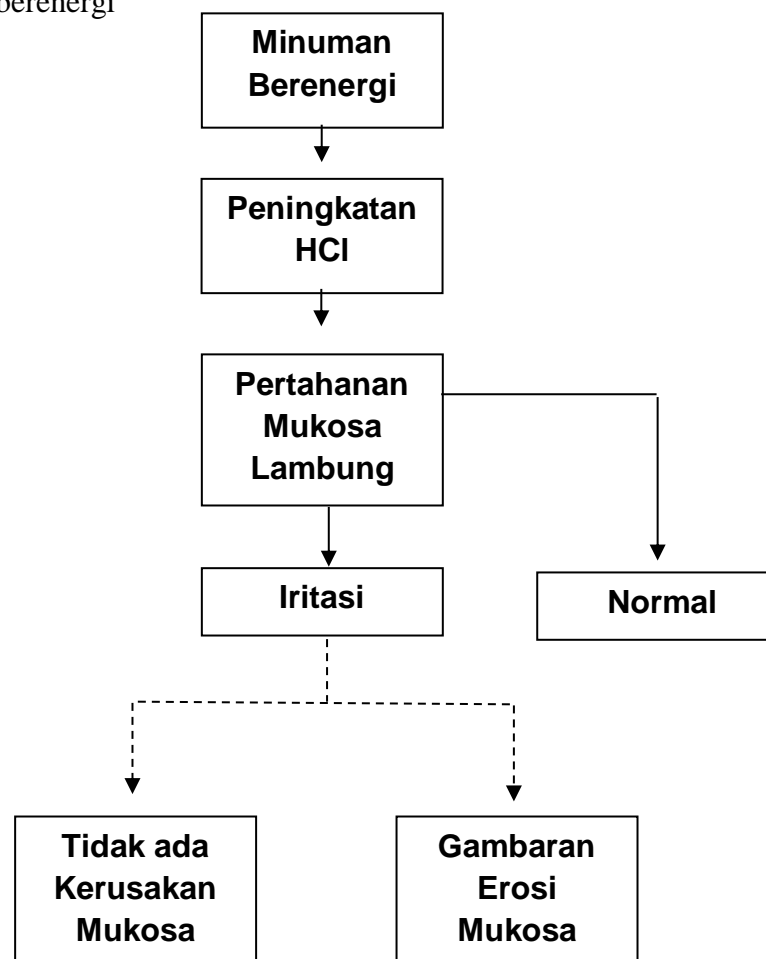
Kriteria	Keterangan
Berat	150-600 gram
Kepala dan Badan	Badan besar, pendek, hidung tumpul
Ekor	Lebih pendek daripada kepala ditambah badan
Telinga	Ukurannya relative kecil, jarang lebih dari 20-23mm
Bulu	Warna pada bagian punggung abu-abu kecoklatan dan keabu-abuan pada bagian perut

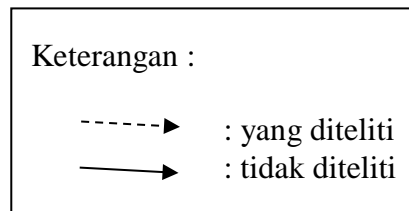


Gambar 4. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley (Janvier Labs, 2013).

2.4 Kerangka Teori

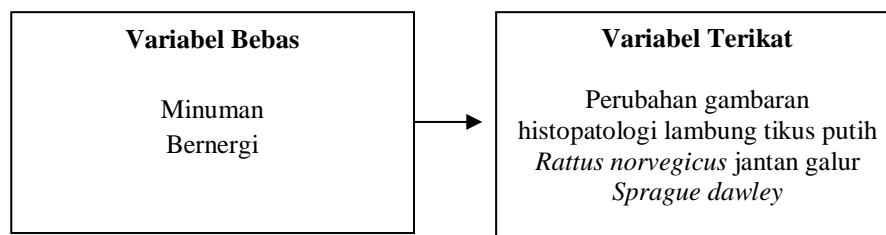
Minuman berenergi





Gambar 5. Kerangka Teori Pengaruh Pemberian Minuman Berenergi Terhadap Gambaran Histologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 6. Kerangka Konsep Pengaruh Pemberian Minuman Berenergi Terhadap Gambaran Histologi Lambung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.6 Hipotesis

Adapun hipotesis pada penelitian ini sebagai berikut :

1. H_0 : Pemberian minuman berenergi tidak memengaruhi gambaran histologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.
2. H_a : Terdapat pengaruh pemberian minuman berenergi terhadap gambaran histologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik yang menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *post test only controlled group design*, yaitu penelitian yang menggunakan perbandingan hasil dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Notoatmodjo, 2012). Penelitian ini menggunakan sebanyak ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* umur 8-12 minggu dipilih secara acak (*random sampling*) dan dibagi menjadi 5 kelompok digunakan sebagai subjek penelitian.

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pemeliharaan tikus dan pemberian intervensi dilakukan di *animal house* Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Pembuatan preparat dan pengamatannya dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Waktu penelitian dilakukan selama 14 hari.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* dewasa umur 8-12 minggu. Tikus tersebut diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Sampel penelitian sebanyak 25 ekor tikus dipilih secara acak (*random sampling*) yang

dibagi 5 kelompok, sesuai dengan rumus Federer. Rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental adalah :

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

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok (Aprilia, 2010). Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi :

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

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

$$(5n-4) \geq 15$$

$$5n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

Maka sampel yang digunakan untuk tiap kelompok sebanyak 5 ekor tikus putih dan jumlah kelompok yang digunakan adalah 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih dari populasi yang ada. Namun untuk menghindari *drop out*, ditambahkan tikus menggunakan 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 dkk., 2012)

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

$$N = \frac{6}{1-10\%}$$

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

$$N = 4,1$$

$$N = 4 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka besar sampel koreksi yaitu 25 tikus ditambahkan 4 tikus, sehingga jumlah sampel keseluruhan yang digunakan adalah sebanyak 29 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley*. Untuk pemilihan sampel peneliti menggunakan teknik *simple random sampling*. Adapun 5 kelompok tersebut terbagi menjadi:

1. Kelompok K1/kontrol negatif dimana subjek penelitian hanya diberikan pakan standar dan air/*aquadest* selama 14 hari.
2. Kelompok K2/kontrol Positif dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta etanol 40% 1,8 ml/Hari selama 14 hari selama 14 hari.
3. Kelompok P1/perlakuan 1 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta minuman berenergi 2,7 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 14 hari.
4. Kelompok P2/perlakuan 2 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* minuman berenergi 3,4 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 14 hari.
5. Kelompok P3/perlakuan 3 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta minuman berenergi 4,1 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 14 hari.

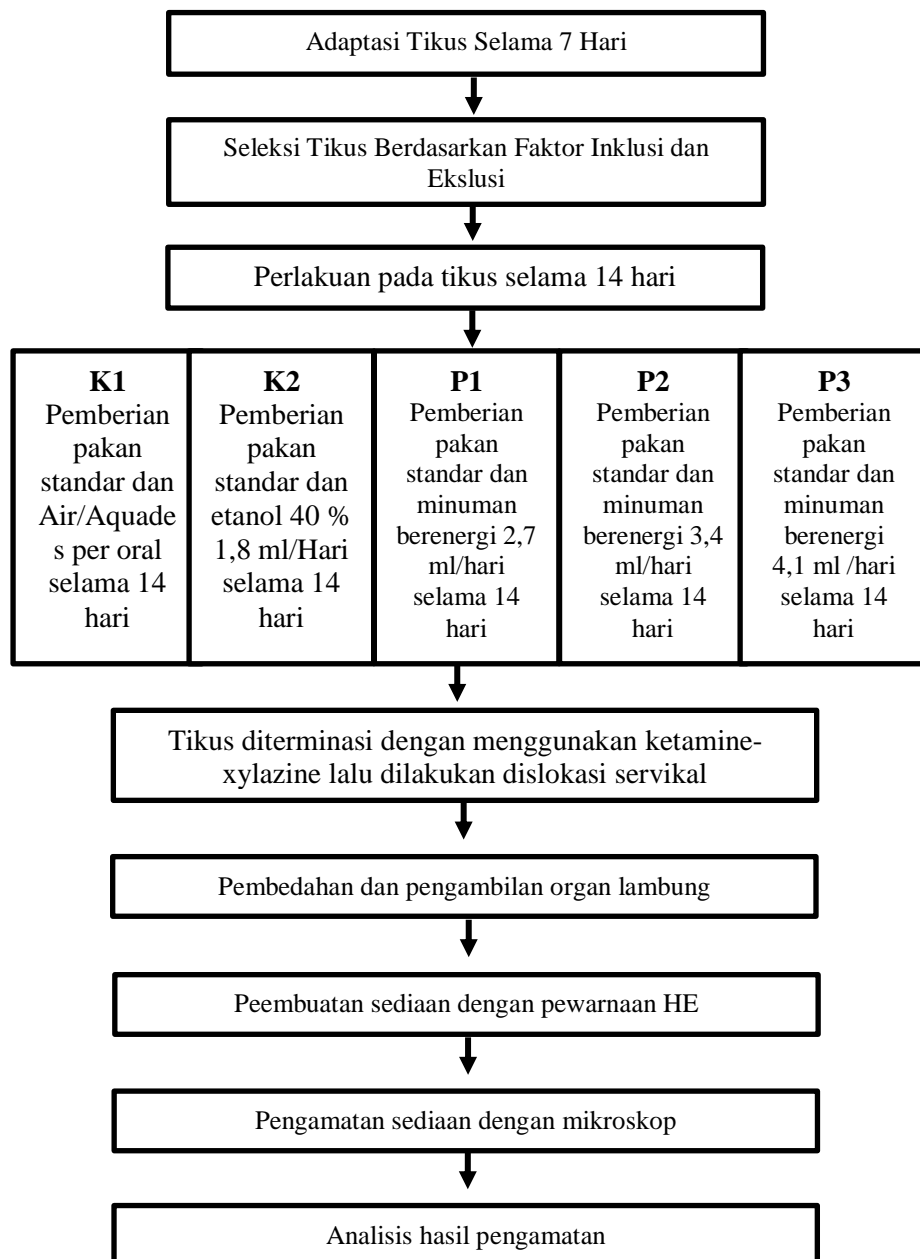
3.3.1 Kriteria Inklusif

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*
- b. Sehat (tidak ada penyakit maupun kelainan anatomis)
- c. Memiliki berat badan 150-200 gram
- d. Jenis kelamin jantan
- e. Berusia sekitar 8-12 minggu (dewasa)

3.3.2 Kriteria Eksklusif

- Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi di *Animal House*.
- Penampakan rambut tikus kusam, rontok dan aktivitas kurang/tidak aktif.
- Mati selama masa pemberian intervensi atau perlakuan.

3.3.3 Alur Penelitian



Gambar 6. Diagram Alur Penelitian

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Neraca analitik *Metler Toledo* dengan tingkat ketelitian 0,01 g untuk menimbang berat tikus
- b. Sduit oral 3 cc
- c. Kandang tikus beserta botol minum
- d. Sonde
- e. Satu set alat bedah minor (untuk mengambil organ tikus)
- f. Alat untuk proses mikroteknik pembuatan preparat histologi

3.4.2 Bahan

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Minuman beerenergi serbuk sachet 4,2 g yang dibeli di swalayan.
- b. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague dawley
- c. Sekam Kzndang Tikus
- d. Air/aquadest
- e. Pakan tikus standar
- f. *ketamine-xylazine*
- g. *Xylol*
- h. Pewarnaan Hemaktosilin Eosin

3.4.3 Alat Pembuatan Preparat Histoligi

Adapun alat yang digunakan untuk pembuatan preparathistologi, yaitu:

- a. *Object glass*
- b. *Desk glass*
- c. *Tissue cassette*
- d. *Rotary microtome*
- e. Microtome
- f. *Oven*
- g. *Waterbath*
- h. *Platening table*
- i. *Autotechnicome processor*
- j. *Staining jar*

- k. *Staining rack*
- l. Kertas saring
- m. Histoplast
- n. *Paraffin dispenser*
- o. Mikroskop

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pemilihan Minuman Berenergi

Pada penelitian ini menggunakan minuman energi serbuk yang dibeli dari swalayan. Minuman energi serbuk kemudian dijadikan larutan dengan campuran 4,2 g minuman energi dicampurkan 150 ml air, lalu diberikan pada tikus melalui sonde.

3.5.2 Perhitungan Dosis Pemberian Minuman Berenergi

Perhitungan dosis ini dilakukan berdasarkan penelitian Maulida (2021) dengan menggunakan tabel perbandingan luas permukaan tubuh hewan coba, dimana dosis tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018 dosis manusia. Dalam tiap sajian per 1 botol minuman berenergi yaitu 150 ml dan dosis konversi banyaknya volume minuman berenergi untuk tikus yang setara dengan 150 ml minuman brenergi yaitu $0,018 \times 150$ ml adalah 2,7 ml. Maka volume minuman berenergi yang diberikan masing-masing kelompok kontrol yaitu:

1. Kelompok K1/kontrol negatif dimana subjek penelitian hanya diberikan pakan standar dan air/*aquadest* selama 14 hari.
2. Kelompok K2/kontrol positif dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta etanol 40 % 1,8 ml/Hari selama 14 hari selama 14 hari.
3. Kelompok perlakuan 1 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta minuman berenergi 2,7 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 14 hari.

4. Kelompok perlakuan 2 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* minuman berenergi 3,4 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 14 hari.
5. Kelompok perlakuan 3 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta minuman berenergi 4,1 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 14 hari.

3.5.3 Pemilihan Hewan Coba

Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh pemberian minuman berenergi pada hewan coba. Sebagai model dipilih tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tikus ini dipilih sebagai model hewan coba karena merupakan mamalia yang mempunyai tipe metabolisme sama dengan manusia sehingga hasilnya dapat digeneralisasi pada manusia. Selain itu, dengan menggunakan tikus sebagai hewan coba, maka pengaruh diet dapat benar-benar dikendalikan dan terkontrol. Namun, hal ini juga mempunyai kelemahan karena manusia dapat mengkonsumsi makanan yang lebih beragam, sehingga kondisi yang dicapai pada penelitian kemungkinan akan berbeda dengan kenyataan pada manusia. Walau demikian, hal ini merupakan pendekatan yang paling dapat dilaksanakan (Tolistiawaty dkk., 2014).

3.5.4 Adaptasi Hewan Coba

Tikus putih sebanyak 29 ekor dibagi ke dalam 4 kandang dan diadaptasi selama 1 minggu sebelum pemberian intervensi dimulai. Selama masa adaptasi tikus diberi pakan standar untuk tikus dan air/*aquadest*. Pengukuran berat badan tikus sebelum perlakuan.

3.5.5 Prosedur Pemberian Intervensi

Untuk pemberian intervensi dilakukan berdasarkan kelompok perlakuan. Kelompok 1 (K1) sebagai kontrol negatif, dimana hanya akan diberi pakan standar dan air/*aquadest* selama 14 hari. Kelompok 2 (K2) kontrol negatif dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan

air/*aquadest* serta etanol 40 % 1,8 ml/Hari selama 14 hari. Kelompok 3 (P1), pada kelompok ini subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta minuman berenergi 2,7 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 2 minggu. Kelompok 4 (P2), Kelompok perlakuan 2 dimana subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* minuman berenergi 3,4 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 2 minggu. Kelompok 5 (P3), Kelompok perlakuan 3 subjek penelitian diberikan pakan standar dan air/*aquadest* serta minuman berenergi 4,1 ml per hari yang diberikan melalui sonde oral selama 2 minggu.

3.5.6 Prosedur Terminasi Hewan Coba

Pada akhir perlakuan, seluruh hewan coba akan dikorbankan dengan cara dekapitasi dibawah anestesi ringan menggunakan *ketamine-xylazine* dengan dosis 0,2 mL/200 mg secara intraperitoneal selama 10-30 menit (AVMA, 2013). Setelah itu dilakukan pembedahan untuk mengambil lambung pada tikus.

3.5.7 Prosedur Pengambilan Bagian Lambung

Setelah yakin bahwa hewan coba tersebut telah diterminasikan maka langkah selanjutnya adalah membedah bagian abdomen tikus tersebut dan kemudian mengambil lambung untuk dibuat menjadi sediaan miskroskopis. Pada penelitian ini akan dilakukan pengamatan terhadap gambaran histologi lambung tikus. Dilihat pada masing-masing bagian lambung yaitu, kardia, fundus, korpus, dan pilorus (Eckman dkk, 2013)

3.5.8 Prosedur Operasional Pembuatan Preparat

Metode pembuatan preparat histopatologi yang bertempat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Prosedur pembuatannya, yaitu:

a) *Fixation*

Spesimen berupa potongan organ telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3-5 kali.

b) *Trimming*

1. Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm.
2. Potongan organ tersebut dimasukkan kedalam *tissue cassette*.

c) *Dehidrasi*

1. Mengeringkan air dengan meletakkan *tissue cassette* pada kertas tisu.
2. Dehidrasi dengan:
 - a. Alkohol 70% selama 0,5 jam
 - b. Alkohol 96% selama 0,5 jam
 - c. Alkohol 96% selama 0,5 jam
 - d. Alkohol 96% selama 0,5 jam
 - e. Alkohol absolut selama 1 jam
 - f. Alkohol absolut selama 1 jam
 - g. Alkohol absolut selama 1 jam
 - h. Alkohol *xylol* 1:1 selama 0,5 jam

d) *Clearing*

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

e) *Impregnasi*

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

f) *Embedding*

1. Sisa paraffin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Paraffin diletakkan ke dalam cangkir logam dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu diatas 58° C.
3. Paraffin cair dituangkan ke dalam pan.
4. Dipindahkan satu persatu dari *tissue cassette* ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. Pan dimasukkan ke dalam air.
6. Paraffin yang berisi potongan lambung dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4-6 °C beberapa saat.
7. Paraffin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
8. Siap dipotong dengan mikrotom.

g) *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum memotong, blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutan.
5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* pada suhu 60 °C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan *slide* bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
7. *Slide* yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37 °C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

h) *Straining* (Pewarnaan) dengan Prosedur Pulasan Hematoksilin-Eosin

Setelah jaringan melekat sempurna pada *slide*, dipilih *slide* yang terbaik lalu secara berurutan dimasukkan ke dalam zat kimia di bawah ini dengan waktu sebagai berikut:

1. Dilakukan deparafinisasi dalam:
 - Larutan *xylol* I selama 5 menit
 - Larutan *xylol* II selama 5 menit
 - Ethanol absolut selama 1 jam
2. *Hydrasi* dalam:
 - Alkohol 96% selama 2 menit
 - Alkohol 70% selama 2 menit
 - Air selama 10 menit
3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - Harris hematoksin selama 15 menit
 - Air mengalir
 - Eosin selama maksimal 1 menit
4. Lanjutkan dehidrasi dengan menggunakan:
 - Alkohol 70% selama 2 menit
 - Alkohol 96% selama 2 menit
 - Alkohol absolut 2 menit
5. Penjernihan
 - *Xylol* I selama 2 menit
 - *Xylol* II selama 2 menit

i) *Mounting* dengan entelan lalu tutup dengan *deck glass*.

Setelah pewarnaan selesai, *slide* ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan *mounting* yaitu entelan dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelombang udara.

j) *Slide* dibaca dengan mikroskop

Slide diperiksa dibawah mikroskop cahaya di laboratorium histologi.
(AVMA, 2013)

3.6 Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

3.6.1 Identifikasi Variabel

- a. Variabel Bebas adalah pemberian minuman berenergi per oral selama 14 hari pada tikus *Sprague dawley* jantan
- b. Variabel Terikat adalah perubahan gambaran histologi lambung tikus *Sprague dawley* jantan dengan melihat pada tiap bagian lambung hewan coba yang diberi intervensi dibandingkan dengan yang kontrol.

3.6.2 Definisi Operasional Variabel

Adapun definisi operasional variable akan dijelaskan dalam bentuk tabel di bawah ini:

Tabel 4. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Pemberian minuman berenergi	Minuman berenergi botol yang dibeli di swalayan	sprit 3 cc	Minuman energi dengan berbagai dosis ke tikus jantan galur <i>Sprague dawley</i>	Kategori ordinal
Perubahan gambaran histologi lambung	Gambaran histopatologi dari lambung tikus dilihat dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x dengan meneliti derajat kerusakan mukosa lambung	Mikroskop cahaya pada 5 lapang pandang	<ol style="list-style-type: none"> a. Nilai skor 0. Normal tidak ada tanda erosi atau ulkus b. Kerusakan ringan skor 1. Ditemukan deskuamasi epitel mukosa lambung (pengelupasan lapisan bagian foveolar superfisial) c. Kerusakan sedang skor 2. Sudah terdapat erosi sel epitel mukosa lambung (sampai batas lamina propia) d. Kerusakan berat skor 3. Ditandai ulserasi epitel mukosa lambung (sampai batas 	Numerik

mukosa muskularis,
submukosa)

3.7 Analisis Data

Hasil penelitian yang sudah dideskripsikan lalu dianalisis statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Dalam analisis uji normalitas didapatkan hasil tidak terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan dengan metode uji Non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk menguji hipotesis penelitian. Hipotesis dianggap bermakna karena didapatkan nilai $p < 0,05$ yang artinya menolak H_0 . Selanjutnya dilakukan analisis *Man-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.8 Ethical Clearance

Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung No.4187/UN26.18/PP.05.02.00/2022. Penelitian ini menjadikan hewan coba sebagai subjek penelitian dengan menerapkan prinsip penelitian 3R yaitu refinement, replacement, dan reduction. Refinement berarti memperlakukan hewan coba tersebut secara manusiawi dengan meminimalkan penderitaan dan meningkatkan kesejahteraan hewan dengan cara merawatnya dengan baik. Replacement berarti penggunaan hewan coba dalam penelitian sudah dipertimbangkan dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lainnya. Reduction berarti menerapkan prinsip protokol penelitian berupa penggunaan hewan coba dengan jumlah se-sedikit mungkin dengan tetap memperoleh hasil yang maksimal dari penelitian tersebut.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Terdapat pengaruh buruk pada pemberian minuman berenergi terhadap kerusakan berupa deskuamasi dan erosi sel mukosa lambung tikus putih.

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penelitian lain disarankan untuk menambah lama penelitian yaitu 30 hari untuk melihat efek pemberian yang lebih kronis terhadap mukosa lambung dikarenakan pada penelitian ini dilakukan hanya selama 14 hari.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis maksimum pemberian minum berenergi, untuk mengetahui dosis maksimal dalam mengonsumsi minuman berenergi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian minuman energi dengan penambahan dari kelompok perlakuan.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis minuman energi yang dapat memberikan efek paling besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsuni, A. 2016. Energy Drink Consumption: Beneficial and Adverse Health Effects. *International Journal of Health Sciences* 9(4): 468 – 74.
- American Veterinary Medical Association. 2013. Guidelines for euthanasia of animals. Tersedia Dari: <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf> Diakses pada tanggal 1 Maret 2019 pukul 21.00
- Angkow, J., Robot, F., Onibala, F. 2014. Faktor-faktor yang Berhubungan Dengan Kejadian Gastritis Diwilayah Kerja Puskesmas Bahu Kota Manado. Manado. Universitas Sam Ratulangi.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2010. Minuman Berenergi. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). <https://www.pom.go.id/new/view/more/berita/156/minuman/berenergi.html> Diakses pada tanggal 30 November 2018 pukul 21.00
- Brache, K., Stockwell, T. 2014. Drinking patterns and risk behaviors associated with combined alcohol and energy drink consumption in college drinkers. Elsevier: *Addictive behaviour* 1133-40.
- Chalik, R. 2016. Anatomi fisiologi manusia. Jakarta: Kemenkes RI Pusdik SDM Kesehatan, Badan Pengembangan dan Pemberdayaan manusia
- Eckman, D. M., Stacey, R. B., Rowe, R., Agostino, R. D., Kock, N. D. 2013. Weekly doxorubicin increases gastric wall. *J.Plos One*. 8(2):1-6
- Eroschenko, V. P. 2014. Atlas histologi difiore dengan korelasi fungsional. Edisi ke-13. Jakarta: EGC.
- Franke, A., Teyssen, S., Singer, M. V. 2006. Alcohol-related diseases of the esophagus and stomach. *Digestive Diseases*. 23(3-4): 204-13
- Hambal, M., Efriyendi, R., Vanda, H., Rusli, R. 2019. Anatomical Pathology And Histopathological Changes Of Ascaridia Galli In Layer Chicken. *Jurnal Medika Veterinaria*, 13(2): 239–47.

- Hartanto, H., Darmaniah, N., Wulandari, N. 2020. Buku Ajar Patologi Robbins. Volume 2 Ed 10. Jakarta: EGC
- Kementrian Pertanian Republik Indonesia. 2017. Statistik Konsumsi Pangan Republik Indonesia. Jakarta: Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian
- Kololu, D. F., Lintong, P. M., Loho, L. 2014. Gambaran histopatologis lambung tikus wistar (*Rattus Novergicus*) yang diberikan alkohol. *Jurnal e-Biomedik*: 2(2):442-51
- Komlim. 2012. Minuman Bernergi bagi Kesehatan. <http://Staminaenergi.com>. Diakses pada tanggal 30 November 2018 pukul 21.00
- Kuswandi, M. R., Lintong, P. M., Loho, L. L. 2017. Gambaran histopatologik lambung tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diberi minuman kopi (*Coffea Arabica L.*). *eBiomedik*, 5(1)
- Liszt, K. I., Ley, J. P., Lieder, B., Behrens, M., Stöger, V., Reiner, A. (2017). Caffeine induces gastric acid secretion via bitter taste signaling in gastric parietal cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(30): 6260-69.
- Liu, C. 2019. Extraction, purification, structural characteristics, biological activities and pharmacological applications of acemannan, a polysaccharide from aloe vera: A review. *Molecules*. 24(8): 1-21
- Lumaksono, M. A., Kusumo, P. D., Gultom, F. L. 2021. Effect of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* Consumption on *Mus musculus* Gaster Histopathological Description. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 5(2): 53-60.
- Maulidia, A., Jatmiko, S. W. 2021. Pengaruh Kopi terhadap Parameter Darah pada Tikus Putih Galur Wistar Diabetik yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 17(1): 35-43.
- Megha, R., Farooq, U., Lopez, P. P. 2021. Stress-Induced Gastritis. In *StatPearls*. StatPearls Publishing
- Mescher, A. L. 2013. Junqueira basic histology. Edisi Ke-13. Pennsylvania: McGraw-Hill Education. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Moore, K. L., Dalley, A. F., Agur, A. M., Moore, M. E. 2013. Anatomi berorientasi klinis. Edisi ke-5. Jakarta: Erlangga.
- Mousa, A. M., El-Sammad, N. M., Hassan, S. K., Madboli, A., Hashim, A. N., Moustafa, E. S. 2019. Antiulcerogenic effect of *cuphea ignea* extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 19(1): 1-13

- Notoadmojo, S. 2012. Metodologi penelitian kesehatan. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Paulsen, F., Waschke, J. 2010. Sobotta atlas anatomi manusia jilid 1 ed 23 EGC. Jakarta
- Price, S. A., Wilson, L. M. 2014. Patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit. Volume 2 edisi 7. Jakarta: EGC
- Puspitasari, P., Kusnadi, D. 2015. Hubungan Antara Konsumsi Minuman Berenergi Yang Mengandung Kombinasi Taurin Dan Kafein Dengan Angka Kejadian Gagal Ginjal Kronis. *Jurnal Kesehatan Hesti Wira Sakti* 3(3): 54– 61
- Putriastuti, R., Lilik, K., Faisal, A. 2007. Persepsi, konsumsi dan preferensi minuman berenergi. *Jurnal Gizi dan Pangan IPB* 2(3): 13 - 25
- Rachmawati, P., Suparyanti, E. L., Isdaryanto, I. 2010. The effect of meniran (*Phyllanthus niruri*) extract protection on mice gastric histology damage induced by aspirin. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*. 8(2): 41-46
- Riesenhuber, A., Boehm, M., Posch, M., Aufrich, C. 2016. Dierutic potential of energy drinks. *Amino Acids*. 31(10): 81-3.
- Reqza, M. P., & Muhartono. 2019. Dampak Mengonsumsi Alkohol terhadap Kesehatan Lambung. *Majority*. 8(2) : 254-58
- Sari, E. F. 2014. Pengaruh Minuman Instan Dengan Frekuensi Berbeda Terhadap Kadar Kreatinin Darah Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Universitas Muhammadiyah Surakarta* 2(1): 4-9
- Sastroasmoro, S., & Ismael, S. 2012. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinisi. Jakarta : Sagung seto.
- Sepkowitz, K. 2013. *Energy Drinks and Caffeine – Related Adverse Effects*. *Journal American Medical Association* 309(3): 243 – 54.
- Sherwood L. 2014. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Edisi ke-8. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sri, T., & Rubiyanti, R. 2020. Pengaruh pemberian ekstrak biji kopi arabika (*Coffea arabica L.*) terhadap histopatologi lambung tikus putih galur wistar. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1) 32-41.
- Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., Setiati, S. 2014. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid II edisi V. Jakarta: Interna Publishing.
- Suharjono, Z., Izzah, M., Rindang, A., Setya, R. 2015. Efek Kronis Minuman Berenergi Pada Ginjal. *Jurnal Farmasi Indonesia* 7(4): 252 – 57.

- Teng, P., Kairupan, C., Loho, L. 2013. Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Wistar yang Diberi Cabe Rawit (*Capsicum frutescens*). Jurnal e-Biomedik, 1: 1109-13
- Tolistiawaty, I., Widjaja, J., Sumolang, P., Octaviani. 2014. Gambaran kesehatan pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) di instalasi hewan coba. Jurnal Vektor Penyakit. 8(1): 27-32.
- Wikipedia. 2017. Minuman Berenergi. <http://wikipediadictionary.com>. Diakses pada tanggal 30 November 2018 pukul 21.00