

# Modifikasi Metode Pengujian Efektifitas Proteksi Lambung Pada Hewan Uji Tikus (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Alkohol

Andy Susbandiyah Ifada<sup>1\*</sup>, Khairil Pahmi, Afdholul Kholiqatil Insani<sup>1</sup>, Mia Karunia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Ilmu Farmasi, Universitas Nahdlatul Wathan, Mataram, Indonesia

\*email : diyah.ifada@gmail.com

**Abstrak:** Tukak lambung atau *gastric ulcer* merupakan salah satu gangguan saluran pencernaan yang memiliki prevalensi yang tinggi. Kondisi ini disebabkan oleh utamanya produksi asam lambung yang berlebihan yang dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya penggunaan obat-obat antiinflamasi non steroid, konsumsi alkohol, serta adanya infeksi bakteri *Helicobacter pylori*. *Gastric ulcer* dapat mengakibatkan timbulnya komplikasi dimulai dari perdarahan di saluran cerna hingga kondisi yang lebih parah seperti kanker, hingga kematian. Studi ini bertujuan untuk menemukan teknik eksperimental yang cocok untuk menguji efektifitas pemberian bahan uji yang diduga memiliki aktivitas proteksi pada lambung. Dalam melakukan uji ini salah satu yang penting adalah pemilihan metode induksi. Proses pembentukan luka secara cepat dapat diperantari dengan pemberian alkohol konsentrasi tinggi. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa induksi dengan alkohol sangat efektif dalam menghasilkan model hewan uji yang mengalami luka pada lambung. Waktu pemberian, dosis, kondisi serta kepekaan hewan uji juga memberikan pengaruh pada terbentuknya luka sehingga dapat mempengaruhi keberhasilan metode uji.

**Kata Kunci:** Tukak lambung, alkohol, tikus, metode uji

## 1. Pendahuluan

Pada dasarnya, asam lambung, *Hydrochloride acid* (HCl) sangat diperlukan oleh tubuh. Dalam kondisi normal, lambung yang sedang beristirahat mengandung sejumlah HCl bebas yang dapat ditoleransi oleh tubuh yang kemudian makin meningkat ketika tubuh bersiap-siap melakukan pencernaan makanan.

HCl yang bebas ini ada dalam konsentrasi yang cukup untuk mempertahankan pH lambung antara 1-2. Jenis makanan yang dikonsumsi, kerja sistem saraf, level mikronutrien, kondisi emosional individu dan berbagai faktor lainnya yang tidak teridentifikasi mampu mempengaruhi tingkat keasaman lambung. Adapun fungsi utama HCl di dalam lambung adalah mempertahankan kondisi lingkungan yang steril dan menginisiasi perubahan pepsinogen menjadi pepsin. (Kelly, 1997). Lebih lanjut, proses tersebut sangat berpengaruh pencernaan makanan di dalam lambung dan usus.

Kondisi homeostatis di lambung bisa berubah menjadi berbahaya akibat gaya hidup yang tidak sehat. Munculnya gangguan pada pencernaan adalah akibat dari ketidakseimbangan antara faktor pelindung (*defensive factors*) dan faktor perusak (*aggressive factors*) baik endogen maupun eksogen. (Nuraida, 2020).

Tukak lambung atau *gastric ulcer* merupakan salah satu gangguan saluran pencernaan yang memiliki prevalensi yang tinggi. Kondisi ini disebabkan oleh utamanya produksi asam lambung yang berlebihan yang dipengaruhi oleh peningkatan keberadaan *aggressive factors* diantaranya penggunaan obat-obat antiinflamasi non steroid, konsumsi alkohol, kebiasaan merokok, serta adanya infeksi bakteri *Helicobacter pylori*. Tingginya angka kejadian tukak lambung berdampak pada tingginya penggunaan obat-obat untuk gangguan pada lambung. Hal ini mendorong pula peningkatan

penemuan bahan alam yang dapat memberi efek proteksi maupun pengobatan untuk lambung.

Pemilihan model pengujian yang sedekat mungkin dengan kondisi klinis adalah sesuatu yang ideal, namun perlu dipertimbangkan pula beberapa modifikasi yang dapat membantu memberikan gambaran hasil penelitian yang diharapkan.

## 2. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen sungguhan (*true experiment*) dengan rancangan penelitian *posttest* dengan kelompok kontrol (*posttest with control group*). Dalam rancangan ini dilakukan randomisasi, artinya pengelompokan anggota – anggota kelompok kontrol dan kelompok eksperimen dilakukan berdasarkan acak atau random.

### Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini hewan uji tikus (*Rattus norvegicus*) dengan bobot 200-300 gram.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain *beaker glass*, gelas ukur, kandang tikus, mortir, set alat bedah, sonde atau spuit tumpul, stemper, timbangan hewan, dan alat-alat gelas lainnya. Bahan yang digunakan aquadest, alkohol 70%, bahan uji ekstrak daun X, dan kloroform.

### Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus yang sudah dewasa, sehat dan normal. Berumur 2-3 bulan, berat badan berkisar 200-300 gram. Hewan diaklimatisasikan selama 7 hari agar terbiasa dengan lingkungan. Hewan dipuasakan selama 6 jam sebelum dilakukan pengujian.

### Penyiapan alkohol

Bahan utama yang digunakan dalam pengujian ini adalah alkohol 70%. Alkohol disiapkan dalam 2 dosis pemberian yaitu 5 ml/kg BB dan 2,5 ml/kg BB.

*Induksi tukak lambung*

Induksi dilakukan dengan pemberian alkohol 70% per oral. Waktu pemberian dibagi 2 yaitu sebelum perlakuan obat dan setelah perlakuan dengan obat. Hari ke-3 setelah induksi tikus kemudian dikorbkan. Euthanasia menggunakan kloroform secara inhalasi. Setelah itu hewan dibedah untuk diisolasi lambungnya.

### 3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan 20 ekor hewan uji tikus yang terbagi menjadi 18 ekor hewan uji tikus yang diinduksi luka lambung dengan menggunakan alkohol 70%, yang dibagi menjadi 2 kelompok dosis dan waktu pemberian dan 2 ekor tikus yang tidak diinduksi alkohol. Tikus putih merupakan hewan yang sangat umum digunakan dalam pengujian di laboratorium sebab ukurannya yang tidak terlalu besar dan sensitifitasnya yang tinggi terhadap banyak obat. Hewan ini cocok untuk berbagai jenis uji termasuk uji terkait sekresi asam lambung. (Sivakrishnan, 2021). Hasil pengamatan induksi alkohol 70% sebagaimana pada tabel berikut :

**Tabel 1. Hasil Pengamatan Hewan Uji setelah induksi luka dengan alkohol 70% dengan perbedaan dosis alkohol**

Kelompok Hewan Uji	Dosis alkohol			
	No.	5 ml/kg BB	No.	2,5 ml/kg BB
K (-)	1	Mati	1	Hidup
	2	Mati	2	Hidup
	3	Mati	3	Hidup
K (+)	1	Mati	1	Hidup
	2	Mati	2	Hidup
	3	Hidup	3	Hidup
Perlakuan Bahan Uji	1	Mati	1	Hidup
	2	Mati	2	Hidup
	3	Hidup	3	Hidup-
Normal (diinduksi)	1	-	1	-

**Tabel 2. Hasil Pengamatan Hewan Uji setelah induksi luka dengan alkohol 70% dengan perbedaan waktu pemberian**

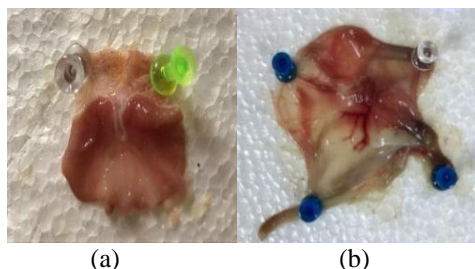
Kelompok Hewan Uji	Waktu pemberian alkohol			
	No.	30 menit Sebelum pemberian obat/bahan uji	No.	30 menit setelah pemberian obat/bahan uji
K (-)	1	Mati	1	Hidup
	2	Mati	2	Hidup
	3	Hidup	3	Hidup
K (+)	1	Mati	1	Hidup
	2	Mati	2	Hidup
	3	Hidup	3	Hidup
Perlakuan Bahan Uji	1	Mati	1	Hidup
	2	Mati	2	Hidup
	3	Hidup	3	Hidup-

Tabel 1 dan 2 di atas menunjukkan kondisi hewan uji yang diinduksi dengan dosis alkohol yang berbeda dan waktu pemberian yang berbeda. Alkohol sebagai salah satu faktor perusak (*aggressive factors*) pada saluran cerna. Søreide (2015) menyatakan secara sederhana, penurunan kemampuan pertahanan mukosa pada pasien-pasien yang mengalami peningkatan asam lambung telah diduga sebagai hasil dari lingkungan yang hipersekretori asam bersama-sama dengan faktor makanan dan stress. Faktor risiko lainnya yang memperparah adalah infeksi *H. pylori* , konsumsi alkohol dan tembakau, penggunaan non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) dan adanya sindrom Zollinger–Ellison.

Dalam percobaan ini, alkohol dipilih sebagai penginduksi karena efeknya yang cepat sehingga cocok untuk membuat model hewan uji tukak lambung. Pemberian alkohol secara oral akan berpenetrasi ke dalam lapisan mukosa (epitel) lambung mengakibatkan peningkatan permeabilitas mukosa dan terjadi difusi balik ion hidrogen yang dapat merusak mukosa lambung. Pemilihan konsentrasi 70% ditujukan untuk menghasilkan lesi/luka dalam waktu singkat di mana kurang dari sehari telah terbentuk luka pada hewan, hal ini ditandai dengan adanya kematian. Tikus yang mengalami kematian langsung dilakukan pembedahan untuk mengamati lambungnya. Ditemukan bahwa terjadi lesi yang banyak dan luas akibat pemberian dosis 5 ml/kg BB sebelum pemberian obat/bahan uji.

Dosis alkohol 5 ml/kg BB dapat menyebabkan lesi pada lambung (Peter, 2020). Untuk menghasilkan kondisi luka terlebih dahulu (sesuai kondisi klinis) maka alkohol diberikan 30 menit sebelum bahan uji. Dalam waktu kurang dari sehari didapati kematian lebih dari 50% dari total tikus yang diinduksi. Sebanyak 7 tikus dari 9 tikus mati pada hari pertama perlakuan. Hasil pembedahan menunjukkan kondisi lambung yang bengkak dan kembung. Lambung yang dibuka dan dicuci bersih memperlihatkan banyak lesi. Lambung yang kembung disebabkan oleh produksi gas yang berlebihan akibat kondisi inflamasi di lambung. Kematian hewan

ditemukan pada semua kelompok yang diinduksi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian obat dan bahan uji tidak mampu mencegah kerusakan lambung oleh sebab induksi alkohol dengan dosis 5 ml/kg BB di awal. Di sisi lain, lesi yang ditimbulkan membuktikan bahwa induksi dengan alkohol 70% berhasil di mana sebagai kontrol yaitu kelompok normal yang tidak mengalami kerusakan/tidak terbentuk lesi, seperti diperlihatkan pada gambar berikut :



Gambar 1. Lambung tikus : (a) normal (tidak diberikan alkohol) dan (b) diinduksi alkohol 70% 5 ml/kg BB

Meskipun berhasil sebagai penginduksi, namun penggunaan alkohol 70% dengan dosis 5 ml/kg BB dan waktu pemberian di awal tentu tidak cocok digunakan sebagai metode pengujian apabila peneliti ingin mempelajari efektifitas pemberian suatu obat atau bahan yang diduga memiliki aktivitas proteksi lambung maupun antitukak. Untuk memperoleh hasil yang lebih baik maka hewan uji diharapkan terinduksi luka pada lambungnya namun tetap hidup hingga batas waktu pengamatan berakhir. Penurunan dosis induksi dan perubahan waktu pemberian dapat menjadi pilihan. Berdasarkan tabel 2 terlihat bahwa tidak ada kematian hewan pada kelompok yang diberikan dosis alkohol setengah dari dosis semula dan diberikan 3 menit setelah pemberian bahan uji/obat.

Meskipun secara klinis pasien akan mengkonsumsi obat karena ada kondisi sakit namun dalam pengujian farmakologi eksperimental di mana pilihan induksinya menggunakan bahan yang toksik dan mampu menghasilkan luka yang cukup parah dalam waktu yang singkat maka pilihan memberikan obat atau bahan uji lebih dulu dapat dipertimbangkan mengingat obat dan bahan yang diberikan memerlukan waktu untuk diabsorpsi dan terdistribusi. Hal yang perlu diperhatikan adalah penurunan dosis dan perubahan waktu pemberian alkohol tetap memberikan efek. Hal ini ditandai dengan terbentuknya lesi pada kelompok kontrol negatif, sebagaimana pada gambar.



Gambar 2. Lambung tikus yang diinduksi alkohol 70% dosis 2,5 ml.kg BB

Data pada tabel yang memperlihatkan bahwa terdapat dua tikus yang tetap hidup meskipun diberi

alkohol 70% 5 ml/kg BB menunjukkan bahwa ada faktor lain yang mempengaruhi kematian hewan uji. Kondisi biologis masing-masing hewan terutama daya tahan tubuhnya adalah faktor yang berperan. Datta (2015) dalam Kuna (2018) menyatakan bahwa hanya sejumlah kecil dari pasien/orang yang mengalami peptic ulcer oleh karena pengaruh infeksi bakteri *H. Pylori* dan penggunaan NSAID, hal ini bermakna bahwa faktor kerentanan individu sangatlah penting khususnya pada permulaan terjadinya kerusakan mukosa. Polimorfisme fungsional pada gen-gen sitokin yang berbeda dikaitkan dengan kejadian *peptic ulcer*.

Pada akhirnya pemilihan metode induksi dengan alkohol 70% mampu menghasilkan kondisi luka lambung akut dengan tingkat keparahan yang tinggi dengan ditemukannya kematian lebih dari 50% hewan uji. Penurunan dosis menghasilkan induksi yang lebih baik, yaitu hewan uji mengalami luka namun tetap hidup. Pemberian bahan uji di awal sebelum induksi juga dapat dipilih sebagai cara pemberian obat yang lebih efektif untuk mengamati kemampuan bahan yang uji dalam menghasilkan efek proteksi lambung.

#### 4. Kesimpulan

Pengujian dengan hewan percobaan perlu dilakukan dengan beberapa modifikasi disesuaikan dengan kondisi biologis hewan serta karakteristik induksi namun tetap harus memberikan hasil uji yang *reliable*.

#### Daftar Pustaka

Datta De, D.; Roychoudhury, S. To be or not to be: The host genetic factor and beyond in Helicobacter pylori mediated gastro-duodenal diseases. *World J. Gastroenterol.* **2015**, *21*, 2883–2895. [[CrossRef](#)]

Ikechukwu Emmanuel Peter, Mary Theresa Onwuka Akachukwu, Florence Nwakaego Mbaoji, Martha Nneoma Ofokansi, Chukwuemeka Sylvester Nworu. Evaluation of the Antiulcer Activity of Methanol/Methylene Chloride Leaf Extract of *Chromolaena odorata* (L.) in Rats. *Trends Nad. Prod. Res.* 1(2) : 87-98, 2020.

Kelly, G.S. (1997). Hydrochloric Acid: Physiological Functions and Clinical Implications. *Alternative Medicine Review*, Vol. 2 (2).

Kuna, L., Jakab, J., Smolic, R., Raguz-Lucic, N., Vcev, A., & Smolic, M. (2019). Peptic ulcer disease: a brief review of conventional therapy and herbal treatment options. *Journal of clinical medicine*, 8(2), 179.

Nuraida, E., & Hadi, M. (2020). Effectiveness of neem (*Azadirachta indica* a. juss) bark extract as a gastroprotektor. *JKKI*; 11(2) : 150-156

Sivakrishnan, S., & Anbiah, S. V. (2021). ANIMALS USED IN EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY AND 3 RS. *Pharmacophore*, 12(1).

Søreide, K.; Thorsen, K.; Harrison, E.M.; Bingener, J.; Møller, M.H.; Ohene-Yeboah, M.; Søreide, J.A. Perforated peptic ulcer. *Lancet* **2015**, *386*, 1288–1298.