BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Ulkus peptikum adalah salah satu penyakit yang serius dan telah di kenal luas di dunia. Sebagian besar ulkus peptikum disebabkan oleh infeksi *Helicobacter pylori (H. pylori)* dan penggunaan Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS). Salah satu bentuk utama ulkus peptikum adalah ulkus lambung. Ulkus lambung merupakan salah satu penyakit ulserativa saluran makanan bagian atas yang terjadi karena ketidakseimbangan antara faktor defensif dan faktor agresif lambung.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan adanya efek profilaksis perasan daun sembukan *(Paederia foetida L.)* terhadap ulkus lambung tikus putih terinduksi etanol. Perasan daun *P. foetida L.* dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8% diberikan secara oral selama 3 hari sebelum induksi ulkus dilakukan. Induksi ulkus lambung dilakukan dengan memberikan etanol 80% sebanyak 1 ml per oral. Parameter yang digunakan untuk menilai tingkat keparahan ulkus adalah perhitungan skor ulkus lambung menurut Narayan *et al.*(2004). Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pembuktian ilmiah daun *P. foetida L.* sebagai profilaksis ulkus lambung.

A. Perasan daun *Paederia foetida L.*

Identifikasi daun *P. foetida L.* dilaksanakan sebelum penelitian berlangsung. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa bahan yang diteliti benar-benar daun *P. foetida L.* serta untuk menghindari kesalahan dalam

pengumpulan sampel daun yang akan digunakan dalam penelitian. Daun *P. foetida L.* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari desa Bibis, Poncosari, Srandakan, Bantul. Pengambilan daun dilakukan pada bulan Agustus dan September.

Pembuatan perasan dilakukan dengan cara sederhana, yaitu dengan cara ditumbuk kemudian diperas. Cara ini dipilih karena hasil perasannya lebih banyak bila dibandingkan dengan hasil perasan menggunakan alat *juicer*. Pertama-tama, daun yang akan dibuat perasan ditimbang sesuai keperluan, kemudian dicuci dengan air mengalir dan diangin-anginkan sebentar. Tujuan dari diangin-anginkan adalah untuk menghilangkan air cucian yang masih menempel pada daun sehingga dapat diperoleh perasan dengan konsentrasi murni (100%). Setelah diangin-anginkan, daun diiris kecil untuk memudahkan proses penumbukan. Penumbukan dilakukan hingga daun halus, kemudian disaring dengan bantuan kain tipis. Setelah diperoleh perasan dengan konsentrasi 100%, hasil perasan diencerkan menjadi konsentrasi 2%, 4% dan 8% dengan penambahan akuades.

Kandungan air pada daun *P. foetida L.* tidak terlalu banyak. Sepuluh gram daun menghasilkan ± 2,3 ml perasan. Daun dengan berat yang sama dapat menghasilkan jumlah perasan yang berbeda. Penggunaan konsentrasi 2%, 4% dan 8% ini didasarkan pada prinsip rasionalitas dan konversi dosis dari dosis pada

B. Uji efek profilaksis perasan daun *P. foetida L.* terhadap ulkus lambung tikus putih terinduksi etanol

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *post only control group*, yaitu penelitian dilakukan dengan hanya mengamati efek yang terjadi setelah pemberian perlakuan. Subyek penelitian yang digunakan adalah 30 ekor tikus putih betina, galur *Spraque Dawley* dengan usia 3 bulan dan berat berkisar 145-250 gram. Subyek penelitian dipelihara dalam kandang khusus dengan pakan, kondisi kandang dan pencahayaan yang sama. Pada penelitian ini dipilih tikus galur *Spraque Dawley* karena tikus galur ini agresifitasnya rendah bila dibandingkan galur lain, misalnya galur *Wistar*. Tikus betina *Spraque Dawley* agresifitasnya lebih rendah daripada tikus jantannya, terutama ketika tikus dipuasakan. Subyek penelitian ditimbang untuk menentukan jumlah perasan yang akan diberikan.

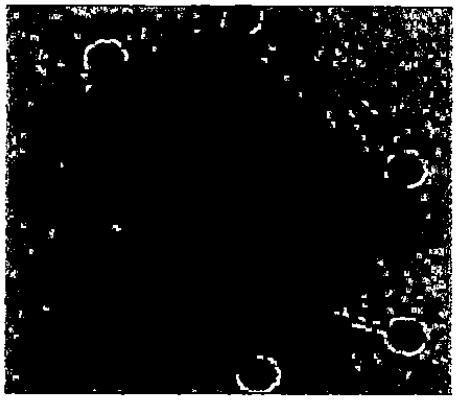
Subyek penelitian dibagi dalam 6 kelompok secara acak dengan jumlah tiap kelompok adalah sama, yaitu 5 ekor tikus. Kelompok I merupakan kelompok kontrol tanpa perlakuan. Hewan uji diperlakukan normal seperti biasa, tanpa induksi ulkus lambung. Tujuannya agar terbentuk lambung normal tanpa ulkus. Kelompok II merupakan kelompok kontrol negatif. Hewan uji diberi perlakuan berupa induksi ulkus lambung dengan etanol 80% sebanyak 1 ml. Kelompok III, IV dan V adalah kelompok perlakuan. Ketiga kelompok ini masing-masing diberi perasan daun *P. foetida L.*dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8% selama 3 hari, kemudian dipuasakan tanpa makan selama 24 jam. Pada hari ke-5, masing-masing kelompok diberi perasan daun *P. foetida L.* kemudian diinduksi ulkus dengan

mengunakan etanol 80% sebanyak 1 ml. Kelompok VI adalah kelompok kontrol positif. Hewan uji diberi sukralfat 0,36 ml/200 grBB selama 3 hari, kemudian dipuasakan tanpa makan selama 24 jam. Pada hari ke-5, hewan uji diberi sukralfat terlebih dahulu sebelum induksi ulkus dilakukan.

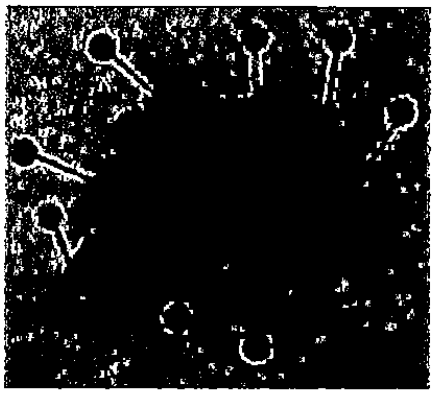
Tikus dipuasakan selama 24 jam sebelum induksi ulkus. Tujuannya adalah supaya lambung tikus dalam keadaan kosong sehingga lebih mudah terbentuk ulkus yang sempurna. Pada keadaan lambung kosong ini, sekresi asam lambung akan meningkat sehingga akan meningkatkan faktor agresif lambung. Setelah diberi etanol, hewan uji dipuasakan tanpa makan dan minum selama 1 jam.

Pembedahan dilakukan pada saat 1 jam setelah induksi ulkus dilakukan. Sebelum dibedah, tikus dianastesi dahulu dengan eter hingga mati. Caranya dengan memasukkan tikus ke dalam toples yang telah diberi cairan eter. Pembedahan dilakukan dengan membuka perut tikus dan diambil organ lambungnya. Lambung dibuka dengan menggunting sepanjang kurvatura minor. Lambung dibersihkan dengan NaCl fisiologis untuk menghilangkan debris, kotoran dan mencegah kerusakan sel-sel serta jaringan. Lambung kemudian diamati secara makoskopis. Gambaran makroskopis lambung tikus dapat dilihat pada Gambar 5a-f.

Setiap kelompok diamati skor ulkus lambungnya berdasarkan perhitungan skor menurut Narayan *et al.,* (2004) dengan modifikasi. Hasil perhitungan skor ulkus lambung dapat dilihat pada Tabel 2 dan perbandingan skor ulkus setiap

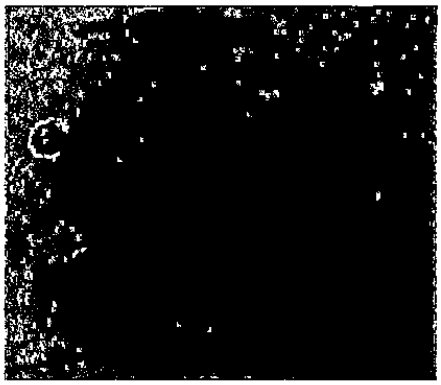


Gambar 5a. Kontrol tanpa perlakuan (normal)

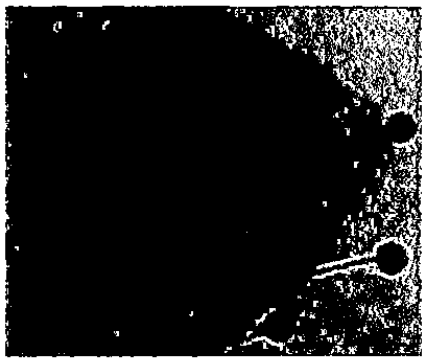


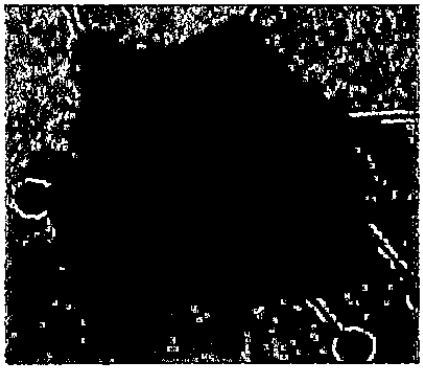
Gambar 5b. Kontrol negatif (ulkus)

Gambar 5c. Perasan 2%



Gambar 5d. Perasan 4%

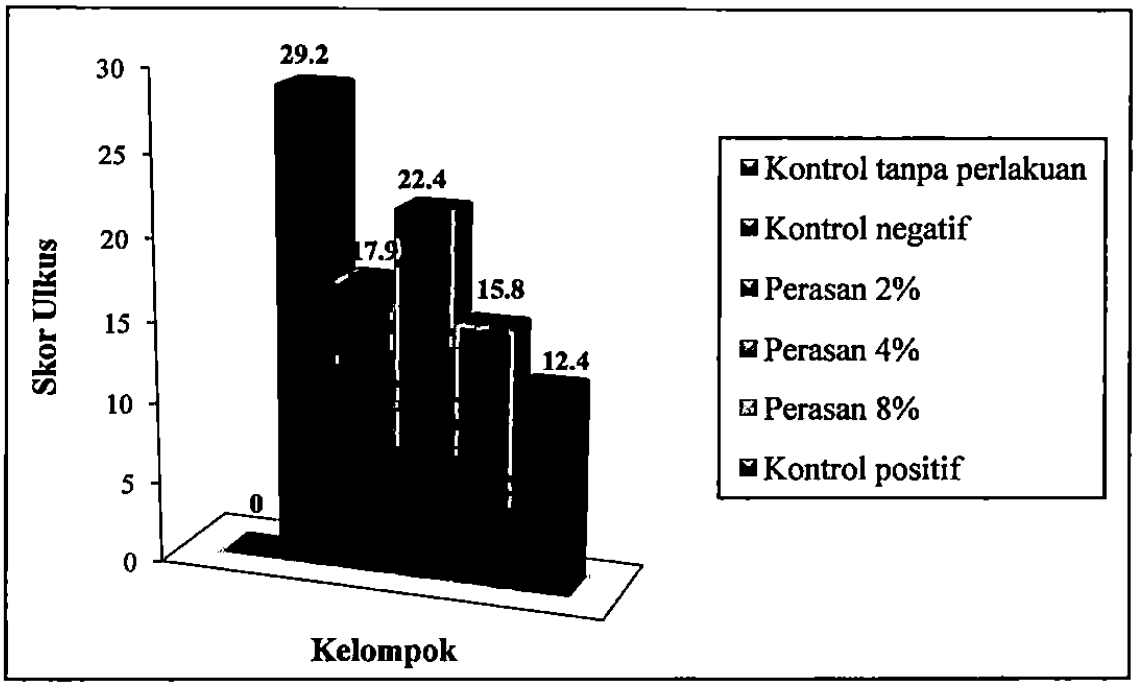




Tabel 2. Hasil perhitungan skor ulkus lambung menurut Narayan *et al.*, (2004) dengan modifikasi

NO.	KELOMPOK	SKOR ULKUS
1	Kontrol tanpa perlakuan	0 ± 0^{a}
2	Kontrol negatif	29.2 ± 4.5^{b}
3	Perasan 2%	17.9 ± 6.1^{c}
4	Perasan 4%	22.4 ± 11.6^{bc}
5	Perasan 8%	15.8 ± 10.5^{c}
6	Kontrol positif	12.4 ± 6.8^{c}

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p<0.05$)



Gambar 6. Histogram perbandingan skor ulkus lambung

Analisis data secara statistik dilakukan setelah semua skor dari tiap kelompok dihitung. Analisis statistik dilakukan dengan metode analisis non parametrik Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan analisis *post hoc* menggunakan

uji Mann-Whitney melalui program komputer SPSS 16.0. Tingkat kepercayaan pada analisis ini adalah 95% atau tingkat kemaknaan 5% ($p<0,05$). Pada penelitian ini menggunakan analisis non parametrik Kruskal-Wallis karena data yang diperoleh tidak memenuhi syarat untuk dilakukan analisis parametrik.

Lambung pada kelompok kontrol tanpa perlakuan tidak didapatkan ulkus. Hal ini terjadi karena pada kelompok ini tidak diinduksi ulkus. Tujuannya untuk mengetahui lambung yang normal. Hasil analisis data diperoleh perbedaan skor ulkus yang signifikan secara statistik antara kelompok kontrol tanpa perlakuan dengan kelompok kontrol negatif, kelompok perasan 2%, 4% dan 8%, serta kelompok kontrol positif.

Pada kelompok kontrol negatif, terbentuk ulkus yang terdiri dari warna lambung kemerahan, titik perdarahan, garis perdarahan dan ulkus dengan perdarahan. Induksi ulkus lambung dapat dilakukan dengan beberapa cara. Salah satunya adalah dengan etanol sebagaimana yang dilakukan dalam penelitian ini. Etanol diketahui sebagai salah satu faktor yang dapat meningkatkan resiko erosi mukosa lambung dan pembentukan ulkus (Loguercio *et al.*, 1993 *cit* Olaleye & Farombi, 2006). Etanol merupakan agen ulserogenik yang bila diberikan ke tikus secara intragastrik akan menyebabkan erosi perdarahan lambung yang berat. Radikal bebas mungkin terlibat dalam patogenesis pembentukan ulkus lambung terinduksi etanol, terpisah dari mekanisme yang lain seperti pelepasan leukotrien mukosa dan vasokonstriksi pembuluh darah submukosa. Ulkus lambung terinduksi etanol berkaitan dengan produksi signifikan radikal bebas yang memacu peningkatan peroksidasi lipid sehingga menyebabkan kerusakan pada sel

dan membran sel. Akumulasi dari netrofil yang teraktivasi pada mukosa lambung mungkin menjadi sumber dari radikal bebas (Shetty *et al.*, 2000). Pemberian etanol 80% sebanyak 1 ml sebagai agen penginduksi ulkus lambung pada penelitian ini didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Narayan *et al.*, (2004).

Selain etanol, Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS) seperti aspirin dapat digunakan sebagai agen penginduksi ulkus. Kesulitan penggunaan aspirin sebagai agen penginduksi ulkus adalah aspirin sukar larut dalam air, sehingga ulkus yang terbentuk kurang sempurna. Pembentukan ulkus yang kurang sempurna dapat menyulitkan pengamatan dalam menentukan skor ulkus lambung.

Berdasarkan patofisiologinya, terapi farmakologik ulkus peptikum ditujukan untuk menekan faktor-faktor agresif dan/atau memperkuat faktor-faktor defensif. Pengobatan ulkus peptikum sudah mulai ditujukan untuk memperkuat mekanisme defensif mukosa lambung-duodenum, yakni dengan obat-obat sitoproteksi. Istilah sitoproteksi mengacu pada mekanisme proteksi mukosa lambung-duodenum terhadap kerusakan oleh faktor-faktor agresif lambung. Mekanisme sitoproteksi belum diketahui secara pasti (Setiawati, 1992).

Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan sukralfat. Sukralfat adalah salah satu obat sitoproteksi non prostaglandin dengan proteksi lokal. Sukralfat berupa garam alumunium dari sukrosa sulfat. Pada suasana asam (perut kosong), obat ini membentuk pasta kental yang secara selektif mengikat pada ulkus (berupa kompleks yang stabil antara molekul obat dengan protein pada permukaan ulkus, yang tahan hidrolisis oleh pepsin) dan berlaku sebagai barier

yang melindungi ulkus terhadap difusi asam, pepsin dan garam empedu. Sukralfat juga memiliki efek sitoproteksi dengan 2 mekanisme yang berbeda, yaitu melalui pembentukan prostaglandin endogen dan melalui efek peningkatan langsung sekresi mukus (Setiawati, 1992). Pada kelompok kontrol positif juga terbentuk ulkus, namun jumlahnya lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.. Ulkus yang terbentuk hanya terdiri dari warna lambung kemerahan, titik perdarahan dan garis perdarahan.

Adanya hewan uji kelompok kontrol tanpa perlakuan dengan kelompok kontrol negatif bertujuan untuk membandingkan antara lambung normal dengan lambung yang mengalami ulkus. Sedangkan adanya hewan uji kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan perasan bertujuan untuk membandingkan tingkat kesembuhan ulkus yang disebabkan efek sitoprotektif dari sukralfat dengan perasan daun *P. foetida L.*

Perbedaan yang signifikan secara statistik terjadi pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif. Perbedaan ini menunjukkan bahwa kontrol yang digunakan dalam penelitian ini telah sesuai dengan harapan, yaitu sebagai acuan untuk menentukan ada tidaknya efek profilaksis yang ditimbulkan oleh daun *P. foetida L.*

Pada kelompok perasan 2%, 4% dan 8% terbentuk ulkus yang jumlahnya lebih rendah daripada kelompok kontrol negatif namun lebih tinggi daripada kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa perasan daun *P. foetida L.* memiliki efek profilaksis terhadap terjadinya ulkus lambung. Ulkus yang terbentuk pada kelompok ini hanya warna lambung kemerahan, titik perdarahan

garis perdarahan dan ulkus dengan perdarahan. Perbandingan skor antara perasan 2%, 4% dan 8% tidak menunjukkan nilai yang signifikan secara statistik. Hal ini berarti kenaikan konsentrasi perasan tidak berpengaruh pada efek profilaksis yang ditimbulkan. Perbandingan skor ulkus antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perasan 2% dan 8% menunjukkan nilai yang signifikan secara statistik, meskipun tidak pada perasan 4%. Hal ini dimungkinkan karena standar deviasi kelompok perasan 4% sangat besar. Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perasan 2%, 4% dan 8% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini mendukung hipotesis bahwa perasan daun *P. foetida L.* memiliki efek profilaksis terhadap ulkus lambung. Efek profilaksis yang dimiliki *P. foetida L.* setara dengan sukralfat.

Kandungan kimia yang terdapat pada batang dan daun *P. foetida L.* adalah senyawa iridoid (paederosid, skandosid, asam paederosidat, asperulosid), alkaloid, sitosterol, arbutin, asam oleanolat dan minyak atsiri. Pada daun segar ditemukan senyawa iridoid, antara lain skandosid, paederosid, asperulosid, asperulin, desasetil asperulosid, asam paederosidat, paederon, paederolon, metilmerkaptan, asam palmitat, stigmasterol, beta sitosterin, kampesterol, asam ursolat, senyawa lipofilik, hentriakontan dan serilalkohol (Sudarsono *et al.*, 2002).

Pemberian etanol menyebabkan peningkatan skor ulkus secara signifikan. Pemberian perasan *P. foetida L.* sebelum diberikan etanol dapat mengurangi skor ulkus secara signifikan. Etanol menyebabkan kerusakan mukosa lambung karena produksi yang signifikan dari radikal bebas yang memacu peningkatan peroksidasi lipid dan kerusakan pada sel dan membrane sel. Akumulasi dari netrofil yang

teraktivasi pada mukosa lambung mungkin sebagai sumber radikal bebas. Pengurangan konsentrasi asam nukleat pada lambung yang diinduksi etanol mungkin menyebabkan akumulasi radikal bebas. Pemberian perasan *P. foetida L.* memberikan proteksi melawan efek alkohol pada asam nukleat, hal ini menunjukkan kemungkinan adanya beberapa antioksidan yang melindungi mukosa lambung dari radikal bebas yang menyebabkan kerusakan (Narayan *et al.*, 2004).

Terjadinya gastritis, duodenitis, ulkus lambung dan ulkus duodenum adalah karena ketidakseimbangan antara faktor-faktor agresif (asam dan pepsin) dan faktor-faktor defensif (resistensi mukosa) pada mukosa lambung-duodenum. Asam lambung yang bersifat korosif dan pepsin yang bersifat proteolitik merupakan 2 faktor terpenting dalam menimbulkan kerusakan mukosa lambung-duodenum. Faktor-faktor agresif lainnya adalah garam empedu, obat-obat ulserogenik (aspirin dan anti inflamasi non steroid lainnya, kortikosteroid dosis tinggi), merokok, etanol, bakteria, leukotrien B4 dan lain-lain. Faktor-faktor yang merupakan mekanisme proteksi mukosa lambung-duodenum adalah sawar mukus-bikarbonat, sawar mukosa, aliran darah mukosa dan regenerasi mukosa (Setiawati, 1992). Tiga faktor utama yang berperan dalam proses terjadinya ulkus peptikum adalah gaya hidup *(lifestyle)* seperti stres dan diet, asam lambung dan pepsin serta bakteri *Helicobacter pylori.* Faktor-faktor lain yang memegang peranan dalam proses terjadinya ulkus peptikum adalah rokok, kafein, alkohol, stres dan OAINS