

ARTIKEL PENELITIAN

Efek Pemberian Induksi Etanol Absolut Terhadap Perubahan Histologi Jaringan Gaster Pada Tikus Model Gastritis

Hastuti Herman¹, Rahmawati Minhajat^{2,3,4*}, Mirna Muis^{2,4,5}, Batari Todja Umar^{2,4,6}, Muhammad Husni Cangara^{4,7}, Andi Alfian Zainuddin⁸

1.Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 2.Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 3.Departemen Ilmu penyakit dalam, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 4.Rumah Sakit Perguruan Tinggi Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 5.Departemen Radiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 6.Departemen Ilmu Kesehatan Mata, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 7.Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia; 8. Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

Korespondensi: Hastuti Herman, email: hastutiherman8@gmail.com, No. HP: 081271077119

Abstrak

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh pemberian etanol absolut pada perubahan histologi dinding gaster. **Metode:** Tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan berat badan 220g sebanyak delapan ekor dibagi kedalam dua kelompok ($n = 4$) yaitu kelompok kontrol tanpa pemberian etanol absolut dan kelompok gastritis yang diberi etanol absolut 1 ml. Setelah proses pembedahan dinding gaster dievaluasi secara makroskopik dan mikroskopik. **Hasil:** Induksi etanol absolut menyebabkan lesi hemoragik pada mukosa luminal gaster secara makroskopik. Sedangkan pengamatan histologi menunjukkan adanya tanda ulserasi, deskuamasi epitel, hemoragik akut pada mukosa, dan edema sub-mukosa, sedangkan muskularis tidak ditemukan kelainan pada lapisan muskularis dan serosa. **Kesimpulan:** Etanol absolut yang diberikan pada tikus model gastritis menunjukkan lesi makroskopik berupa hemoragik mukosa luminal dan perubahan histologis berupa ulserasi, deskuamasi epitel, hemoragik akut, dan edema sub-mukosa, sedangkan lapisan muskularis dan serosa tampak normal.

Kata kunci: Gastritis; Etanol absolut; Gambaran histologi

Abstract

*This study aims to determine the effect of absolute ethanol ingestion on changes in the stomach wall's histology. **Methods:** Eight male rats (*Rattus norvegicus*) with 220g body weight were divided into two groups ($n = 4$), first group was the control group, which did not receive any absolute ethanol, and the second group was gastritis group, which received 1 ml absolute ethanol. The stomach wall was assessed macroscopically and microscopically following the surgical procedure. **Result:** The induction of absolute ethanol generated macroscopically visible hemorrhagic lesions of the stomach luminal mucosa. Moreover, histological examination revealed ulceration, epithelial desquamation, acute hemorrhagic mucosa, and submucosal edema, although the muscularis and serosa layers exhibited no abnormalities. **Conclusion:** Absolute ethanol administration to gastritis model rats resulted in luminal mucosal hemorrhages and histological alterations including ulceration, epithelial desquamation, acute hemorrhage, and submucosal edema, while the muscularis and serous layers appeared normal.*

Keywords: Gastritis; Absolute ethanol; Histological characteristics

PENDAHULUAN

Cedera pada saluran pencernaan menjadi penyakit yang sulit untuk dihindari. Cedera pada dinding lambung (gaster) salah satu yang paling umum. Faktor-faktor seperti infeksi *Helicobacter pylori*, konsumsi nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), merokok, stress jangka panjang, konsumsi alkohol berlebihan dan jenis makanan tertentu (berlemak, manis atau pedas) menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara faktor defensif dan faktor agresif pada gaster.¹⁻⁴ Kondisi ini memungkinkan terjadinya cedera berupa inflammasi pada dinding gaster meliputi pengelupasan epitel, hemoragik akut, edema, dan infiltrasi sel radang yang sering disebut gastritis. Gastritis akut akan berkembang menjadi kronis jika tidak diobati dengan optimal.⁵⁻⁸

Umumnya gastritis diobati dengan obat-obatan golongan inhibitor pompa proton (PPI) seperti omeprazole atau pantoprazole dan golongan H₂ blocker seperti ranitidin dan famotidine untuk mengurangi produksi asam, serta golongan antasida seperti aluminium hidroksida atau magnesium hidroksida dan kalsium karbonat untuk menetralkan asam pada lumen gaster. Namun, efek samping dari penggunaan obat-obatan tersebut perlu dipertimbangkan karena diduga dapat menyebabkan defisiensi vitamin B12 dan mengembangkan kondisi hiperglikemia jika digunakan dengan resep yang tidak tepat dan secara terus menerus.^{4,9-11}

Kenyataan bahwa terjadinya perubahan lapisan dinding gaster masih sulit untuk ditangani dengan tuntas akibat faktor penyebab yang tidak terlepas dari gaya hidup dan lingkungan menjadi alasan yang kuat penelitian tentang hal ini cukup

diminati. Upaya untuk menghasilkan bahan obat alternatif yang berasal dari bahan alam maupun herbal terus dikembangkan. Umumnya penelitian untuk uji bahan obat digunakan metode eksperimental yang diuji pada hewan coba. Hewan coba dibuat sebagai model untuk melihat efek terapi dari bahan uji.

Pemodelan penyakit gastritis pada hewan coba telah dilaporkan sebelumnya, secara umum dapat dilakukan dengan pemberian bahan induksi berupa etanol absolut maupun NSAIDs melalui jalur oral. Manifestasinya berupa lesi pada area dinding gaster seperti nekrosis, hemoragik, edema, dilatasi pembuluh darah, dan degenerasi sel. Persentasi, durasi pemberian, dan berat hewan coba turut berperan penting dalam mengembangkan derajat keparahan lesi yang terjadi.¹²⁻¹⁷ Penelitian ini bertujuan untuk menilai pengaruh pemberian etanol absolut pada perubahan histologi dinding gaster.

METODE

Pernyataan Etik

Proses penelitian dilakukan dengan mengikuti *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Edition 8*, oleh *Institute for Laboratory Animal Research 2011* dan disetujui oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin (Nomor: 777/UN4.6.4.5.31/PP36/2021).

Seleksi, aklimatisasi dan pemeliharaan hewan coba

Delapan tikus putih *Rattus norvegicus* jantan dengan berat badan 220g dibagi kedalam dua kelompok (n = 4): kelompok kontrol tidak diberi etanol

absolut dan kelompok gastritis yang diberi etanol absolut 1 ml. Subjek dirawat didalam laboratorium terkontrol suhu, tekanan udara, kelembaban, dan siklus gelap dan terang setiap 12 jam serta diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*.

Alat dan Bahan

Mikroskop Olympus X5201, Etanol absolut, netral buffer formalin 10% dan eter diperoleh dari CV. Intraco Makassar. Alkohol 90%, alkohol 80%, alkohol 70%, alkohol asam, xilol, hematoxylin, dan eosin di Laboratorium Patologi Anatomi RSPTN Universitas Hasanuddin.

Induksi etanol absolut pada tikus

Induksi gastritis dilakukan dengan cara tikus dipuaskan selama 24 jam kemudian diberi sondase 1 ml etanol absolut dosis tunggal yang dipertahankan selama 1 jam. Setelah itu dilakukan pembedahan dan pengangkatan jaringan.

Pengambilan dan pemeriksaan sampel jaringan

Tiap hewan coba dari masing-masing kelompok dieutanasia dibawah anestesi ringan menggunakan eter kemudian dilanjutkan dengan pembedahan bagian abdomen untuk mengangkat organ gasternya. Evaluasi secara makroskopik dilakukan dengan mengamati bagian mukosa luminal gaster yang dipotong sepanjang kurvatura mayor. Spesimen yang terfiksasi selanjutnya didehidrasi kedalam alkohol bertingkat, dijernihkan dalam xilol bertingkat, ditanam pada paraffin, dipotong tipis $\pm 5 \mu\text{m}$, dan diwarnai dengan hematoxylin dan eosin

(H&E). Seluruh perbandingan dan perubahan histologi lapisan dinding gaster diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian bahan obat sebagai alternatif terapi untuk penyakit gastritis secara otomatis membutuhkan hewan coba model gastritis. Umumnya untuk membuat model ini digunakan bahan induksi berupa etanol. Etanol absolut dapat merusak integritas mukosa gaster akibat dari stres oksidatif dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang pada akhirnya menyebabkan gastritis akut bahkan kronis.^{7,16} Kondisi akut dan kronis tersebut akan memicu peningkatan sekresi asam pada gaster. Sekresi asam gaster disebabkan oleh aktivasi reseptor histamin 2 (H₂R) oleh histamin, aktivasi reseptor cholecystokinin 2 (CCK₂R) oleh gastrin, dan aktivasi reseptor muscarinic acetylcholine (M₃R) oleh acetylcholine. H₂R meningkatkan sekresi asam pada lumen gaster melalui jalur cAMP/ protein kinase/ pompa proton M₃R. Sementara aktivasi CCK₂R melalui jalur Ca⁺-dependent yang pada gilirannya mengaktifkan pompa H⁺/K⁺ ATPase pada sel parietal. Hal ini akan meningkatkan konsentrasi asam hydrochloric (HCl) pada cairan gaster, yang menimbulkan terjadinya lesi pada mukosa gaster.^{16,18-20}

Area mukosa luminal kelompok kontrol menunjukkan tampilan normal tanpa lesi, permukaan rugae halus berkelok, dan warnanya tampak pucat Sementara kelompok gastritis menunjukkan mukosa luminal yang mengalami lesi berupa hemoragik akut yang ditandai dengan perdarahan yang

memanjang dan luas pada area lambung kelenjar.

Induksi etanol absolut meningkatkan permeabilitas sawar permukaan luminal gaster sehingga memungkinkan difusi balik HCl yang pada gilirannya akan menginduksi terjadinya lesi akut. Studi sebelumnya oleh Yeo et al. (2018) telah melaporkan bahwa pemberian ethanol 60% sebanyak 1,5 ml yang dilarutkan dalam larutan HCl 150 nM setelah 30 menit menunjukkan beberapa area lesi pada epitel gaster.⁷ Berdasarkan hal ini, diketahui bahwa penggunaan etanol absolut untuk menginduksi gastritis pada hewan coba dapat dilakukan dengan mempertimbangkan persentase, volume, dan durasi pemberian agar kondisi gastritis dapat dicapai secara optimal.

Secara mikroskopik kelompok kontrol menunjukkan lapisan dinding gaster yang lengkap yang terdiri dari area mukosa, sub-mukosa, muskularis, dan serosa dengan tautan antar sel yang rapat. Sementara, kelompok gastritis menunjukkan area mukosa yang mengalami ulserasi meliputi sel permukaan luminal dan gastrik pit berupa deskuamasi epitel dan hemoragik akut (gambar 1B). Hal ini sejalan dengan studi Yu et al. (2020) yang melaporkan bahwa pemberian 1 ml etanol absolut pada tikus dengan berat badan 180-200g menunjukkan terjadinya lesi hemoragik pada area mukosa gaster.²¹ Studi oleh Heideri et al. (2021) melaporkan bahwa pemberian 1 ml etanol absolut dosis tunggal pada tikus dengan berat badan 200g dapat menyebabkan pelepasan epitel dan ulkus pada area mukosa gaster.¹⁵ Namun, berat badan hewan coba juga perlu menjadi pertimbangan karena perbedaan berat badan dapat berimplikasi pada perbedaan volume gaster.

Disamping itu, area sub-mukosa gaster tampak mengalami edema yang ditandai dengan adanya akumulasi cairan pada jaringan ekstrasvaskuler. Lesi pada epitel mukosa gaster dapat memicu pelepasan histamin. Histamin akan meningkatkan permeabilitas pembuluh darah yang memungkinkan terjadinya infiltrasi sel radang beserta plasma protein menuju area lesi. Studi Azab et al. (2017) telah melaporkan bahwa pemberian etanol 99% dosis tunggal sebanyak 1 ml pada tikus dengan berat badan 150-170g menunjukkan adanya infiltrasi sel radang dan dilatasi pembuluh darah pada lapisan sub-mukosa.¹³

Sementara studi Lee et al. (2015) melaporkan bahwa pemberian etanol absolut dosis tunggal sebanyak 5 ml/kgbb tikus menyebabkan hemoragik, infiltrasi sel radang, deskuamasi epitel, edema pada sub-mukosa, dan kongesti pembuluh darah.²² Hal ini menunjukkan bahwa edema pada sub-mukosa sangat mungkin terjadi akibat induksi etanol absolut meskipun dengan derajat keparahan yang mungkin berbeda karena adanya perbedaan volume pemberian etanol.

Area muskularis baik kelompok kontrol maupun kelompok gastritis menunjukkan lapisan otot polos yang utuh. Sama halnya dengan serosa yang menampilkan lapisan peritoneum visceral yang normal. Studi Kengkoom et al. (2017) melaporkan bahwa pemberian etanol absolut dosis tunggal sebanyak 5 ml/kgbb tikus menunjukkan degenerasi otot dengan hemoragik dan kongesti pada area muskularis.¹⁴ Sehingga diketahui bahwa etanol absolut 1 ml yang diberikan pada tikus hanya mampu mengembangkan kondisi gastritis berupa lesi di area mukosa dan edema sub-mukosa, namun tidak

menunjukkan perubahan pada muskularis dan serosa.

SIMPULAN

Pemberian etanol absolut dosis tunggal yang diberikan pada tikus model gastritis menunjukkan lesi makroskopik berupa hemoragik mukosa luminal dan perubahan histologis berupa erosi, deskuamasi epitel, hemoragik akut, dan edema sub-mukosa, sedangkan tidak ditemukan perubahan yang berarti pada lapisan muskularis dan serosa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Choi EY, Hwang HJ, Kim IH, Nam TJ. Protective effects of a polysaccharide from *Hizikia fusiformis* against ethanol toxicity in rats. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2009;47(1):134–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.026>
2. Shaker E, Mahmoud H, Mnaa S. Anti-inflammatory and anti-ulcer activity of the extract from *Alhagi maurorum* (camelthorn). *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2010;48(10):2785–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.007>
3. Satyanarayana MN. Capsaicin and gastric ulcers. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2006;46(4):275–328.
4. Cologne. Gastritis: Overview. In: Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG) [Internet]. 2018. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK310265/>
5. Al Asmari A, Al Shahrani H, Al Masri N, Al Faraidi A, Elfaki I, Arshaduddin M. Vanillin abrogates ethanol induced gastric injury in rats via modulation of gastric secretion, oxidative stress and inflammation. *Toxicol Reports* [Internet]. 2016;3:105–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxrep.2015.11.001>
6. Choi YJ, Kim N, Lee JY, Nam RH, Seo JH, Lee S, et al. Gastroprotective effects of PMK-S005 against ethanol-induced acute gastric damage in rats. *Gut Liver*. 2016;10(3):348–55.
7. Yeo D, Hwang SJ, Kim WJ, Youn HJ, Lee HJ. The aqueous extract from *Artemisia capillaris* inhibits acute gastric mucosal injury by inhibition

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterimah kasih kepada Sekolah Pascasarjana, dr. Itzar Chaidir Islam Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, staf Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan staf RSPTN Universitas Hasanuddin yang telah memberi dukungan dalam proses publikasi.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada

- of ROS and NF- κ B. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018;99(September 2017):681–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.118>
8. Azer SA, Hossein Akhondi. Gastritis. In: *StatPearls* [Internet]. 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544250/>
 9. Lam JR, Schneider JL, Zhao W, Corley DA. Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor antagonist use and vitamin B12 deficiency. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2013;310(22):2435–42.
 10. Singh A, Ashraf A. Hypercalcemic crisis induced by calcium carbonate. *CKJ Clin Kidney J*. 2012;5(4):288–91.
 11. Freedberg DE, Kim LS, Yang YX. The Risks and Benefits of Long-term Use of Proton Pump Inhibitors: Expert Review and Best Practice Advice From the American Gastroenterological Association. *Gastroenterology* [Internet]. 2017;152(4):706–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.01.031>
 12. Jeon WY, Lee MY, Shin IS, Jin SE, Ha H. Curcuma aromatica water extract attenuates ethanol-induced gastritis via enhancement of antioxidant status. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2015;2015:1–7.
 13. Azab SS, Abdel Jaleelb GA, Eldahshanc OA. Anti-inflammatory and gastroprotective potential of leaf essential oil of *Cinnamomum glanduliferum* in ethanol-induced rat experimental gastritis. *Pharm Biol*. 2017;55(1):1654–61.
 14. Kengkoom K, Tirawanchai NN, Angkhasirisap W, Ampawong S. Omeprazole preserves the RER in chief cells and enhances re-epithelialization of parietal cells with SOD and AQP-4 up-regulation in ethanol-induced gastritis rats. *Exp Ther Med*. 2017;14(6):5871–80.
 15. Heidari F, Komeili-Movahhed T, Hamidizad Z, Moslehi A. The protective effects of rosmarinic acid on ethanol-induced gastritis in male rats: Antioxidant defense enhancement. *Res Pharm Sci*. 2021;16(3):305–14.
 16. Bobby N, Abbas MA, Lee EB, Im ZE, Hsu WH, Park SC. Protective effect of *Pyrus ussuriensis* Maxim. extract against ethanol-induced gastritis in rats. *Antioxidants*. 2021;10(3):1–17.
 17. Lim JH, Kim JH, Kim N, Lee BH, Seo PJ, Kang JM, et al. Gastroprotective effect of cochinchina momordica seed extract in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced acute gastric damage in a rat model. *Gut Liver*. 2014;8(1):49–57.
 18. Kim JY, Park S-D, Nam W, Nam B, Bae CH, Kim HJ, et al. R&BD Center, Korea Yakult Co., Ltd., Gyeonggi 17086, Korea. 2020;25(June):158–65.
 19. Kopic S, Geibel JP. Gastric acid, calcium absorption, and their impact on bone health. *Physiol Rev*. 2013;93(1):189–268.
 20. Kwon DA, Kim YS, Baek SH, Kim SK, Kim HK, Jo SK, et al. Protective effects of a standardized extract

- (HemoHIM) using indomethacin- and ethanol/HCl-induced gastric mucosal injury models. *Pharm Biol* [Internet]. 2019;57(1):543–9. Available from: <https://doi.org/10.1080/13880209.2019.1651875>
21. Yu L, Li R, Liu W, Zhou Y, Li Y, Qin Y, et al. Protective effects of wheat peptides against ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats: Vasodilation and anti-inflammation. *Nutrients*. 2020;12(8):1–13.
22. Lee IC, Baek HS, Kim SH, Moon C, Park SH, Kim SH, et al. Effect of diallyl disulfide on acute gastric mucosal damage induced by alcohol in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2015;34(3):227–39.