

**EFEK PROTEKSI JUS ALPUKAT (*Persea americana* Mill.)
TERHADAP KERUSAKAN MUKOSA LAMBUNG MENCIT
YANG DIINDUKSI ASPIRIN**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**PANTUN SULIBMAR SAGALA
G0003150**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
Surakarta
2010**

PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Skripsi dengan judul: **Efek Proteksi Jus Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Kerusakan Mukosa Lambung Mencit yang Diinduksi Aspirin.**

Pantun Sulibmar Sagala, G0003150, Tahun 2010.

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan Dewan Penguji Skripsi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Pada hari, tanggal Juli 2010

Pembimbing Utama

Nama : M. Arief Tq., dr., MS., PHK
NIP : 1950013.1980031002 (.....)

Pembimbing Pendamping

Nama : Sri Wahjono, dr., MKes.
NIP : 19450824.1973101001 (.....)

Penguji Utama

Nama : Suyatmi, dr., MBiomed.Sci.
NIP : 19720105.2001122001 (.....)

Anggota Penguji

Nama : Pancrasia Murdani K., dr., MHPEd.
NIP : 19480512.1979032001 (.....)

Surakarta, Agustus 2010

Ketua Tim Skripsi

Sri Wahjono, dr., M.Kes.
NIP: 19450824.1973101001

Dekan FK UNS

Prof. Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS.
NIP: 19481107.1973101003

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Juli 2010

Pantun Sulibmar Sagala

NIM: G0003150

PRAKATA

Puji dan syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas segala kasih karunia-Nya maka penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Efek Proteksi Jus Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Kerusakan Mukosa Lambung Mencit yang Diinduksi Aspirin”.

Penulis ucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungan yang telah diberikan selama pelaksanaan dan penyusunan laporan penelitian ini kepada :

1. Bapak Dr. A.A. Subiyanto, dr., MS. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
2. Bapak Sri Wahjono, dr., M.Kes. selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret juga sebagai pembimbing II yang telah memberi kesempatan bagi penulis dan motivasi dalam pembuatan skripsi ini.
3. Bapak Arief Tq, dr., MS., PHK. sebagai Pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu Suyatmi, dr., M.Biomed.Sci. sebagai Penguji I yang telah berkenan menguji dan memberikan kritik demi penyempurnaan skripsi ini.
5. Ibu Pancrasia Murdani K., dr., MHPEd sebagai Penguji II yang telah berkenan menguji dan memberikan masukan kepada penulis.
6. Bapak Diding H. Prasetyo, dr., M.Si. sebagai Pengampu Skripsi yang telah memberikan saran demi penyempurnaan skripsi ini.
7. Semua staf Laboratorium Histologi FKUNS dan staf Bagian Skripsi FKUNS yang telah banyak membantu dalam memperlancar penyusunan skripsi.
8. Orang tua dan saudara dari penulis yang selalu mendorong dan mendoakan keberhasilan penulis.
9. Urip Widhiarso Mukti Ajie, rekan penulis yang telah memberikan nasehat dan pemberian sebagian bahan referensi.
10. Kholid Kusuma Bakti, rekan penulis dalam penelitian yang selalu membantu dalam proses penelitian.
11. Lian Ozax Purba, rekan penulis yang selalu siap sedia membantu meminjamkan mesin print.
12. Semua pihak dan rekan lain.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam skripsi ini, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran untuk penyempurnaan skripsi ini dimasa yang akan datang. Akhir kata, penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberi manfaat bagi ilmu kesehatan pada umumnya dan pembaca pada khususnya.

Surakarta, Juli 2010.
Penulis

Pantun Sulibmar Sagala

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|---------|
| PRAKATA | vi |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR LAMPIRAN | xi |
| BAB I. PENDAHULUAN | |
| A.....Latar | |
| Belakang Masalah | 1 |
| B.....Peru | |
| musan Masalah | 5 |
| C.....Tujua | |
| n Penelitian | 5 |
| D.....Manf | |
| aat Penelitian | 5 |
| BAB II. LANDASAN TEORI | |
| A.....Tijau | |
| an Pustaka | 6 |
| 1.....Alpu | |
| kat (<i>Persea americana</i> Mill.) | 6 |
| a.....Nam | |
| a daerah | 6 |

| | | |
|---|-------|----|
| b..... | Taks | |
| onomi | | 6 |
| c..... | Desk | |
| ripsi | | 6 |
| d..... | Kand | |
| ungan alpukat | | 7 |
| 2..... | Lamb | |
| ung | | 9 |
| a..... | Anat | |
| omi lambung | | 9 |
| b..... | Histo | |
| fisiologi lambung | | 12 |
| c..... | Sekre | |
| si lambung | | 13 |
| d..... | Perta | |
| hanan lapisan mukosa pada lambung | | 13 |
| e..... | Pemb | |
| aruan dan pemulihan | | 15 |
| 3..... | Prost | |
| aglandin | | 15 |
| 4..... | Aspir | |
| in | | 17 |
| B..... | Kons | |
| ep Pemikiran | | 20 |
| C..... | Hipot | |
| esis | | 20 |

BAB III. METODE PENELITIAN

| | | |
|------------------|-------|----|
| A..... | Jenis | |
| Penelitian | | 21 |

| | | |
|--|--------|----|
| B. | Loka | |
| si Penelitian | | 21 |
| C. | Suby | |
| ek Penelitian | | 21 |
| D. | Tekni | |
| k Pengambilan Sampel | | 21 |
| E. | Ranc | |
| angan Penelitian | | 22 |
| F. | Alat- | |
| alat Penelitian dan Bahan-bahan Penelitian | | 23 |
| 1. | Alat- | |
| alat Penelitian | | 23 |
| 2. | Baha | |
| n-bahan Penelitian | | 23 |
| G. | Cara | |
| Kerja Penelitian | | 23 |
| 1. | Pene | |
| ntuan Dosis dan Pembuatan Larutan Aspirin | | 25 |
| 2. | Pemb | |
| uatan Jus Alpukat | | 25 |
| H. | Identi | |
| fikasi Variabel Penelitian | | 26 |
| 1. | Varia | |
| bel Bebas | | 26 |
| 2. | Varia | |
| bel Terikat | | 26 |
| 3. | Varia | |
| bel Luar | | 26 |
| I. | Defin | |
| isi Operasional Variabel Penelitian | | 26 |

| | |
|-----------------------------------|-------|
| 1..... | Varia |
| bel Bebas | 26 |
| 2..... | Varia |
| bel Terikat | 26 |
| 3..... | Varia |
| bel Luar | 27 |
| J..... | Tekni |
| k Analisis Data | 28 |
| BAB IV. HASIL PENELITIAN | |
| A..... | Hasil |
| Penelitian | 29 |
| B..... | Prose |
| s Analisis Data | 31 |
| BAB V. PEMBAHASAN | |
| BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN | |
| A..... | Simp |
| ulan | 37 |
| B..... | Saran |
| | 37 |
| DAFTAR PUSTAKA | 38 |
| LAMPIRAN | 42 |

ABSTRAK

Pantun Sulibmar S., G0003150, 2010. Efek Proteksi Jus Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Kerusakan Mukosa Lambung Mencit yang Diinduksi Aspirin. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek proteksi jus alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin.

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan (*experimental research*) yang diadakan di laboratorium. Rancangan penelitian menggunakan *The Posttest-Only Control Group Design*. Subyek penelitian yaitu 30 mencit jantan galur *Swiss webster*, umur 2-3 bulan, dan massa ± 20 gram. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling*. Sampel dibagi 3 kelompok dengan 10 mencit tiap kelompok secara acak. Kelompok terdiri atas kelompok kontrol (K) tanpa diberi perlakuan, perlakuan 1 (P I) dengan pemberian aspirin 0,1 mL, dan perlakuan 2 (P II) dengan pemberian aspirin 0,1 mL setelah 1 jam sebelumnya diberi jus alpukat 0,5 mL. Pemberian perlakuan secara peroral setiap hari selama 7 hari. Pembuatan preparat lambung dilakukan pada hari ke-8 dengan metode blok parafin dan pengecatan *Hematoxilyn-Eosin*. Preparat kemudian diobservasi seluruh lapang pandang dan dinilai berdasarkan gambaran kerusakan yang paling berat. Dari data yang diperoleh dilakukan uji statistika *Kruskal-Wallis H* ($\alpha = 0,05$) dilanjutkan uji statistika *Mann-Whitney U* ($\alpha = 0,05$) dengan *software SPSS Statistics 17.0*.

Dari hasil uji *Kruskal-Wallis H* diperoleh $p < 0,05$ dan nilai $h = 47,923$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna di antara tiga kelompok sampel atau dengan kata lain terdapat perbedaan gambaran histologis pada seluruh kelompok perlakuan tanpa diketahui kelompok mana yang berbeda. Kemudian hasil uji *Mann-Whitney U* diperoleh K dengan P I ($p < 0,05$), menunjukkan bahwa aspirin dapat menginduksi terjadinya kerusakan pada mukosa lambung. P I dengan P II ($p < 0,05$), menunjukkan bahwa jus alpukat dapat mengurangi kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin. K dengan P II ($p = 0,492$), menunjukkan bahwa jus alpukat dapat mengurangi kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin mendekati gambaran mukosa lambung mencit pada kelompok K.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian jus alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin.

Kata-kata kunci: jus alpukat, tanin, mukosa lambung.

ABSTRACT

Pantun Sulibmar S., G0003150, 2010. Protection Effect of Avocado (*Persea americana* Mill.) Juice on Gastric Mucosal Damage of Mice Induced by Aspirin. Thesis. Medical Faculty of Sebelas Maret University.

The objective of this research was to investigate the protective effect of avocado (*Persea americana* Mill.) juice against gastric mucosal damage induced by aspirin in mice.

This research was an experimental research with *The Posttest-Only Control Group Design*. These research subjects were 30 male *Swiss Webster* mice, aged 2-3 months, and the mass of ± 20 grams. Sampling was conducted with a *purposive sampling* method. Samples were divided randomly into 3 groups with 10 mice each group. Group consists of the control group (K) without treatment, treatment 1 (P I) received 0.1 mL of aspirin, and treatment 2 (P II) received 0.1 mL of aspirin after one hour earlier given avocado juice 0.5 mL. All treatments were given orally every day during 7 days. Making microscopic slides for gastric performed on day 8 by using paraffin blocks and *Hematoxilyn-Eosin* stain. Microscopic slide then observed the entire field of view and given score by most heavily damaged images. And data obtained by statistical test *Kruskal-Wallis H* ($\alpha = 0.05$) followed by statistical analysis *Mann-Whitney U* ($\alpha = 0.05$) with SPSS Statistics 17.0 software.

From the results of *Kruskal-Wallis H* test was obtained $p < 0.05$ and $h = 47.923$. These results indicate that there were significant differences among the three groups of samples or in other words there were differences of histological features in all treatment groups without known which group was different. Then the test results obtained by *Mann-Whitney U* K with P I ($p < 0.05$), showing that aspirin can induce damage to gastric mucosa. PI with P II ($p < 0.05$), indicating that the avocado juice can reduce the damage to gastric mucosa of aspirin-induced mice. K with P II ($p = 0.492$), indicating that the avocado juice can reduce the damage to gastric mucosa of aspirin-induced mice almost equal gastric mucosa of mice in group K.

Conclusion of this research is the avocado (*Persea americana* Mill.) juice can provide protection against gastric mucosal damage of mice induced by aspirin.

Key words: avocado juice, tannin, gastric mucosa.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Lambung merupakan bagian dari organ pencernaan yang berfungsi sebagai reservoir untuk menampung makanan. Didalam lambung, makanan semi-solid yang ditelan mengalami homogenisasi lebih lanjut oleh kontraksi dinding berotot lambung dan secara kimiawi diolah oleh asam dan enzim yang disekresi oleh mukosa lambung (Fawcett, 2002). Asam lambung dan pepsin yang disekresi mukosa lambung bersifat korosif sehingga dapat merusak mukosa lambung itu sendiri (Arif dan Sjamsudin, 2001). Disamping asam lambung dan pepsin, beberapa bahan makanan dan obat-obatan juga dapat mengiritasi mukosa lambung, yang paling sering adalah alkohol dan obat-obat anti-inflamasi non steroid (OAINS) seperti aspirin (Guyton dan Hall, 2006). Sebagai bentuk pertahanan, salah satunya adalah mukosa lambung mengeluarkan mukus sehingga mukosanya tahan terhadap asam lambung, pepsin, dan berbagai iritan (Arif dan Sjamsudin, 2001).

OAINS merupakan pilihan pengobatan yang penting untuk penyakit-penyakit yang menimbulkan gejala nyeri dan inflamasi (Badan POM, 2003). OAINS juga merupakan obat bebas yang paling banyak digunakan masyarakat sebagai obat penghilang rasa sakit (Arifin, 2008). Masyarakat sering menggunakan OAINS untuk mengobati segala keluhan ringan dan tidak berarti sehingga banyak terjadi penggunasalahan (*misuse*) atau penyalahgunaan (*abuse*) obat ini (Wilmana, 2001). Akibat pemakaian yang berlebihan dan kurangnya pemahaman masyarakat tentang cara pemakaian, dapat terjadi

berbagai permasalahan yang berkaitan dengan efek samping yang ditimbulkan (Arbie, 2003).

Efek samping OAINS yang paling penting adalah pada saluran pencernaan. Meskipun dinyatakan bahwa OAINS yang lebih selektif menghambat COX-2, seperti *celecoxib* dan *rofecoxib* sangat minimal mencederai mukosa saluran cerna, hasil kajian Fiorucci dkk. (2003) menunjukkan bahwa bila *celecoxib* digabung dengan asetosal maka pencederaan mukosa saluran cerna lebih banyak bila diberikan sendiri-sendiri. *Celecoxib* dan *rofecoxib* secara nyata meningkatkan keparahan kerusakan mukosa saluran cerna (Lelo *et al.*, 2004). Efek ini disebabkan oleh kerjanya menghambat pembentukan prostaglandin melalui penghambatan kerja enzim siklooksigenase (COX) (Badan POM, 2003). Prostaglandin sendiri berfungsi menghambat sekresi asam lambung dan merangsang sekresi mukosa usus halus yang bersifat sitoprotektif (Wilmana, 2001). Dalam hal ini, dapat terjadi gangguan keseimbangan antara faktor perusak lambung dengan sistem pertahanan lambung. Bila produksi asam lambung dan pepsin yang bersifat korosif tidak berimbang dengan sistem pertahanan lambung, maka akan terjadi gastritis sampai tukak peptik (Arif dan Sjamsudin, 2001).

Gastritis berarti peradangan pada mukosa lambung. Gastritis kronis yang ringan sampai sedang sangat umum pada seluruh populasi, terutama pada tahun-tahun lanjut dari kehidupan dewasa (Guyton dan Hall, 2006). Gejala yang didapat biasanya berupa keluhan rasa sakit seperti terbakar di daerah epigastrik (NIDDK, 2004). Rasa sakit sering menjadi penyebab gangguan

aktivitas sehari-hari penderita (Lelo *et al.*, 2004). Oleh karena itu, keluhan nyeri dapat menjadi kendala dalam peningkatan kualitas sumber daya manusia. Maka perlu dilakukan penanggulangan yang tepat untuk mengurangi keluhan nyeri (Arbie, 2003).

Saat ini pengobatan modern sangat memerlukan biaya, sebagai alternatif, banyak anggota masyarakat kembali ke pengobatan tradisional yang dapat dipercaya. Pengobatan tradisional merupakan salah satu alternatif yang relatif lebih disenangi masyarakat karena dekat dengan masyarakat, mudah diperoleh dan relatif lebih murah daripada obat modern (Zulkifli, 2004). Dalam hal ini, pengobatan tradisional memiliki potensi besar dalam pelayanan kesehatan (Arbie, 2003).

Alpukat (*Persea americana* Mill.) termasuk tanaman obat, yang diketahui dapat digunakan untuk mengatasi nyeri lambung (BPPT, 2005). Kandungan tanin pada buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat berperan sebagai *astringent* (Salawu *et al.*, 2009). Selain itu, alpukat juga mengandung asam lemak tidak jenuh dan beberapa mineral seperti *potassium*, *sodium*, kalsium dan magnesium (Kardarron, 2009). *Potassium*, *sodium*, kalsium dan magnesium dapat menjaga tingkat keasaman lambung (Ali, 2006). Asam lemak tidak jenuh seperti linoleat, merupakan prekursor asam arakidonat, yang selanjutnya asam arakidonat diubah menjadi prostaglandin (Marks *et al.*, 2000). Prostaglandin sendiri merupakan sediaan pro-inflamasi, tetapi juga merupakan sediaan gastroprotektor (Lelo *et al.*, 2004).

Walaupun belum terdapat penelitian yang membahas manfaat alpukat terhadap lambung, namun banyak media massa yang menyatakan manfaat buah alpukat untuk mengatasi sakit *maag*. Oleh sebab itu, penulis hendak meneliti efek proteksi buah alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin.



B. Perumusan Masalah

Apakah pemberian jus alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin?

C. Tujuan Penelitian

Mengetahui adanya efek proteksi jus alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritik

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai penggunaan alpukat (*Persea americana* Mill.) untuk proteksi terhadap kerusakan mukosa lambung.

2. Manfaat Aplikatif

Diharapkan penelitian ini dapat menjadi dasar penelitian pada manusia dalam penggunaan alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai obat tradisional untuk mengatasi keluhan nyeri lambung.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Alpukat (*Persea americana* Mill.)

a. Nama Daerah

Alpuket (Jawa Barat), jambu wolanda (Sunda), alpokat (Jawa Timur/Jawa Tengah), jamboo pokat (Batak), pookat (Lampung) (Bappenas, 2000).

b. Taksonomi

- 1) Kingdom : *Plantae*
- 2) Divisi : *Spermatophyta*
- 3) Sub Divisi : *Angiospermae*
- 4) Kelas : *Dicotyledoneae*
- 5) Ordo : *Laurales*
- 6) Famili : *Lauraceae*
- 7) Genus : *Persea*
- 8) Spesies : *Persea americana* Mill.



Gambar 1. *Persea americana* Mill.

c. Deskripsi

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) berasal dari dataran rendah/tinggi Amerika Tengah dan diperkirakan masuk ke Indonesia pada abad ke-18 (Bappenas, 2000). Tinggi pohon 3-10 m, namun dapat mencapai 20 m. Akar tunggang, batang berkayu berwarna coklat bercabang banyak, ranting berambut halus. Daun tunggal, bertangkai yang panjangnya 1,5-5 cm, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, tepi rata kadang-kadang agak menggulung ke atas, bertulang menyirip, panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, daun muda warnanya kemerahan dan berambut rapat, daun tua warnanya hijau dan gundul.

Bunganya bunga majemuk, berkelamin dua, keluar dekat ujung ranting, warnanya kuning kehijauan ukuran 5 hingga 10 milimeter. Buahnya berbentuk bola atau bulat telur, panjang 5-20 cm, warnanya hijau atau hijau kekuningan, berbintik-bintik ungu atau ungu sama sekali, berbiji satu, daging buah jika sudah masak lunak, berwarna hijau muda dekat kulit dan kuning muda dekat biji, dengan tekstur lembut. Biji bulat seperti bola, diameter 2,5-5 cm, keping biji putih kemerahan (BPPT, 2005).

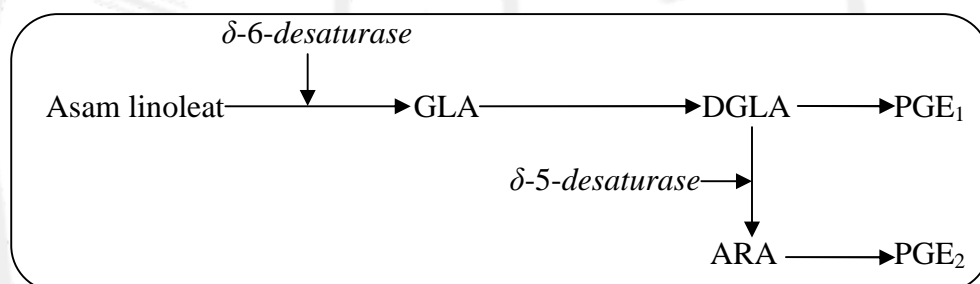
d. Kandungan Alpukat

Buah dan daun mengandung tanin, saponin, alkaloida dan flavonoida. Selain itu daun juga mengandung polifenol, quersetin, gula alkohol persiit (BPPT, 2005). Buah mengandung vitamin A, B6, B12, C, E, thiamin, riboflavin, niasin, asam pantothenik, folat dan beberapa mineral seperti kalsium, magnesium, besi, fosfor, *potassium*, *sodium*, seng, tembaga, mangan, selenium. Buah alpukat kaya akan asam lemak tidak jenuh (Kardarron, 2009).

Tanin merupakan komponen fitokimia yang dapat menjaga integritas membran mukosa. Tanin memiliki efek *astringent* yang menyebabkan terbentuknya presipitasi *micro-proteins* pada permukaan luar sel-sel mukosa pada lambung sehingga membentuk lapisan pelindung yang menghalangi absorpsi zat-zat yang bersifat toksik dan mempertahankan lapisan mukosa terhadap kerja enzim-enzim proteolitik (Salawu *et al.*, 2009). Tanin menurunkan permeabilitas lapisan

permukaan luar mukosa dan meningkatkan pertahanan terhadap infeksi bakteri, iritasi bahan kimia, khususnya iritasi mekanik (Borrelli dan Izzo, 2000).

Asam lemak tidak jenuh yang terdapat dalam alpukat seperti asam linoleat selanjutnya diubah menjadi *Gamma-linolenic acid*. *Gamma-linolenic acid* (GLA) merupakan merupakan asam lemak tidak jenuh ganda (*omega* 6) dengan 18 atom karbon pada rantainya dan 3 ikatan rangkap *cis*. GLA dengan cepat diubah menjadi *dihomo- γ -linolenic acid* (DGLA) yang merupakan prekursor prostaglandin PGE₁ (Thorne Research, 2004).



Gambar 2. Basic omega-6 polyunsaturated fatty acid pathway (Thorne Research, 2004).

Selanjutnya DGLA diubah menjadi asam arakidonat dengan bantuan enzim *delta-5-desaturase*. Asam arakidonat merupakan prekursor PGE₂ yang berfungsi dalam pembentukan mukus pada lapisan mukosa lambung (Flider, 2005).

Kandungan mineral seperti *potassium*, *sodium*, kalsium, magnesium dalam alpukat dapat menetralsir asam lambung yang berlebihan sehingga keasaman lambung tetap terjaga (Ali, 2006). Potassium, kalsium, dan magnesium merupakan mineral yang digunakan

sebagai antasida. Antasida pada umumnya merupakan basa lemah. Ion dari mineral-mineral ini akan bereaksi dengan HCl dengan mengikat ion Cl^- membentuk garamnya, sehingga dapat menetralkan asam lambung (Arif dan Sjamsudin, 2001).

2. Lambung

Lambung adalah segmen saluran pencernaan yang melebar dan merupakan organ gabungan eksokrin dan endokrin yang mencernakan makanan dan sekresi hormon. Fungsi utamanya adalah menambah cairan pada makanan yang dimakan, mengubahnya menjadi bubur yang liat, dan menambah cairan asam untuk mencerna makanan (Fitrie, 2004).

a. Anatomi Lambung

Lambung manusia dapat dibedakan menjadi empat daerah, yakni kardia, *fundus*, korpus, dan pilorus (Fawcett, 2002). Bagian kardia menghubungkan esofagus ke bagian paling atas lambung (*fundus*), *fundus* menjadi satu dengan bagian badan (*corpus*) lalu kebawah berlanjut sebagai antrum. Bagian terbawah lambung (pilorus) berhubungan dengan duodenum (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Terdapat perbedaan nyata dalam kelenjar mukosa kardia, korpus dan pilorus, sedangkan *fundus* hampir sama dengan korpus (Fawcett, 2002).

Dinding lambung terdiri atas empat lapisan umum saluran cerna, yaitu: mukosa, submukosa, muskularis eksterna, dan serosa.

1) Mukosa Lambung

Mukosa lambung yang kosong mengadakan lipatan-lipatan memanjang (*rugae*) yang mencolok, namun pada keadaan penuh lipatan-lipatan ini menjadi rata sehingga permukaan tampak relatif licin (Fawcett, 2002). Permukaan mukosa lambung terdiri dari epitel kolumnar selapis yang mengalami invaginasi dengan berbagai kedalaman di dalam *lamina propria*, membentuk *foveola* gastrika. Dasar *foveola* gastrika terdapat muara sejumlah kelenjar-kelenjar mukosa (Fitrie, 2004). Mukosa lambung biasanya ditutupi oleh lapis mukus pelumas yang melindungi epitel terhadap abrasi oleh makanan, juga sebagai sawar yang melindungi mukosa dari pencernaan oleh asam dan enzim proteolitik (Fawcett, 2002). Mukus adalah sekresi kental yang terutama terdiri dari air, elektrolit, dan campuran beberapa glikoprotein. Glikoprotein dari mukus mempunyai sifat amfoterik, yang berarti bahwa mukus mampu menyangga sejumlah kecil asam atau basa. Mukus seringkali mengandung sejumlah ion bikarbonat, yang khususnya menetralkan asam (Guyton dan Hall, 2006).

2) Submukosa

Submukosa adalah lapisan jaringan ikat yang cukup tebal dengan berkas serat kolagen kasar dan banyak serat elastin. Pada lapisan ini terdapat banyak sel-sel limfosit, eosinofil, sel mast, sel plasma, arteriol, pleksus venosus, dan jalinan pembuluh limfe (Fawcett, 2002).

3) Muskularis eksterna

Dinding lambung mempunyai beberapa lapisan otot, yaitu lapisan terluar dengan serat otot yang berjalan longitudinal, serat otot yang berjalan sirkuler; dan lapisan terdalam dengan serat otot yang berjalan secara *oblique* (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Lapisan-lapisan ini menyatu pada bidang temunya dengan batas yang tidak jelas (Fawcett, 2002).

4) Serosa

Bagian paling luar dari dinding, terdiri atas mesotel, yaitu epitel selapis gepeng yang melapisi rongga abdomen dan menutupi organ-organ didalamnya. Dasar dari mesotel umumnya selapis tipis jaringan ikat longgar, dengan sel-sel adiposa pada bagian tertentu (Fawcett, 2002).

Kelenjar-kelenjar lambung yang terdapat pada daerah kardia mencakup 5% dari keseluruhan wilayah yang terdapat kelenjar lambung dan mengandung mukus dan sel-sel endokrin. Kebanyakan kelenjar lambung (75%) ditemukan di dalam mukosa oksintik dan mengandung *mucous neck, parietal, chief, endocrine, dan enterochromaffin cells*. Kelenjar-kelenjar *pyloric* berada pada daerah *antrum*, kelenjar-kelenjar ini mengandung mucous dan *endocrine cells* (termasuk *gastrin cells*). *Parietal cell*, disebut juga *oxyntic cell*, lebih sering ditemukan pada bagian leher lambung, atau pada *isthmus*, atau disebut juga kelenjar oksintik. Kelenjar oksintik terletak pada bagian korpus dan *fundus*

lambung, meliputi 75% bagian proksimal lambung sementara kelenjar pilorik terletak pada bagian pilorik lambung (Del Valle, 2005).

b. Histofisiologi Lambung

Lambung adalah reservoir untuk menampung makanan dan pengolahannya oleh kelenjar-kelenjar dalam mukosa. Pada keadaan kosong volume lumennya hanya 50-75 mL, namun pada saat makan kapasitasnya dapat mencapai lebih dari 1,2 liter. Volume sekret yang dihasilkan seharusnya berkisar antara 500 sampai 1000 mL, paling banyak saat mencerna makanan. Getah lambung yang bening tanpa warna mengandung mukus, air, HCl, dan enzim pepsin. Sekresi asam mempertahankan lingkungan intern yang optimal untuk proteolisis oleh pepsin yang paling aktif pada pH 2 (Fawcett, 2002).

Kelenjar *fundus* dan korpus, disebut kelenjar oksintik (kelenjar lambung), menghasilkan sebagian besar getah lambung. Bila dirangsang, sel parietal (oksintik) pada kelenjar oksintik menyekresi larutan asam sekitar 160 mmol asam hidroklorida per liter dengan pH sekitar 0,8 (Guyton dan Hall, 2006).

c. Sekresi Lambung

Selain sekresi mukus, yang mengelilingi seluruh permukaan lambung, mukosa lambung mempunyai dua tipe kelenjar tubular yang penting: kelenjar oksintik (gastrik) dan kelenjar pilorik. Sekresi kelenjar oksintik berupa asam HCl, *pepsinogen*, faktor intrinsik dan mukus. Sedangkan kelenjar pilorik, sekresi utamanya adalah mukus, beberapa

pepsinogen, dan hormon gastrin (Guyton dan Hall, 2006). Sekresi lambung dikendalikan oleh interaksi rumit dari mekanisme neural dan endokrin. Jalur rangsangan neural berlangsung melalui saraf vagus. Aktivitas sekresi lambung sangat ditingkatkan pada awal makan, saat kemoreseptor dan mekanoreseptor dalam rongga mulut dirangsang oleh pengunyahan dan pengecapan makanan (Fawcett, 2002). Neurotransmitter atau hormon-hormon dasar yang secara langsung merangsang sekresi kelenjar gaster adalah asetilkolin, gastrin, dan histamin. Sejumlah kecil histamin dibentuk secara kontinu di dalam mukosa lambung menyebabkan sedikit sekresi asam oleh sel-sel parietal. Namun dengan adanya asetilkolin dan gastrin yang merangsang sel parietal pada saat yang sama, jumlah histamin yang sedikit dapat sangat meningkatkan sekresi asam (Guyton dan Hall, 2006).

d. Pertahanan Lapisan Mukosa pada Lambung

Terdapat sistem pertahanan yang rumit pada lambung untuk melindungi lapisan mukosa dari kerusakan dan memperbaiki kerusakan yang ada. Beberapa substansi yang dapat merusak lapisan mukosa lambung selain HCl dan pepsin, adalah obat-obatan, minuman alkohol, dan infeksi bakteri (Del Valle, 2005). Pada keadaan normal, terjadi keseimbangan antara kecepatan sekresi cairan lambung dengan mekanisme pertahanan sawar mukosa lambung (Guyton dan Hall, 2006). Pertahanan mukosa lambung berupa lapisan mukus-bikarbonat, yang

memberikan barrier fisikokimia terhadap molekul-molekul dengan berbagai tingkatan termasuk ion-ion H⁺ (Silbernagl dan Lang, 2000).

Mucus adalah hasil sekresi dalam sebuah sistem regulasi dari permukaan epithelial gastroduodenal. Mucus ini mengandung air (95%) dan campuran dari lipid dan glikoprotein. Mucin pada mucus merupakan unsur penting terdiri atas glikoprotein, dalam kombinasinya dengan fosfolipid, membentuk lapisan hidrofobik dengan asam-asam lemak yang berada sepanjang menuju ke dalam lumen dari membran sel. *Mucous gel* berfungsi seperti sebuah *nonstirred water layer* yang menahan difusi ion-ion dan molekul-molekul seperti pepsin (Silbernagl dan Lang, 2000).

Bikarbonat, merupakan hasil sekresi dari permukaan sel-sel *epithelium* dari gastroduodenal mukosa ke dalam *mucous gel*, yang dapat membentuk sebuah keadaan pH 1-2 pada permukaan lumen lambung dan pH 6-7 pada sepanjang lapisan permukaan sel-sel *epithelium* lambung (Silbernagl dan Lang, 2000). Sekresi bikarbonat distimulasi oleh Ca²⁺, *prostaglandins*, persarafan kolinergik, dan keasaman lumen. Permukaan sel-sel *epitelium* memberikan garis pertahanan lanjutan yang melewati faktor-faktor yang kuat, seperti produksi mucus, transport ionik dari sel-sel epitel yang menjaga pH dalam *intracellular* dan produksi bikarbonat, dan *intracellular tight junctions* (Del Valle, 2005).

e. Pembaruan dan Pemulihan

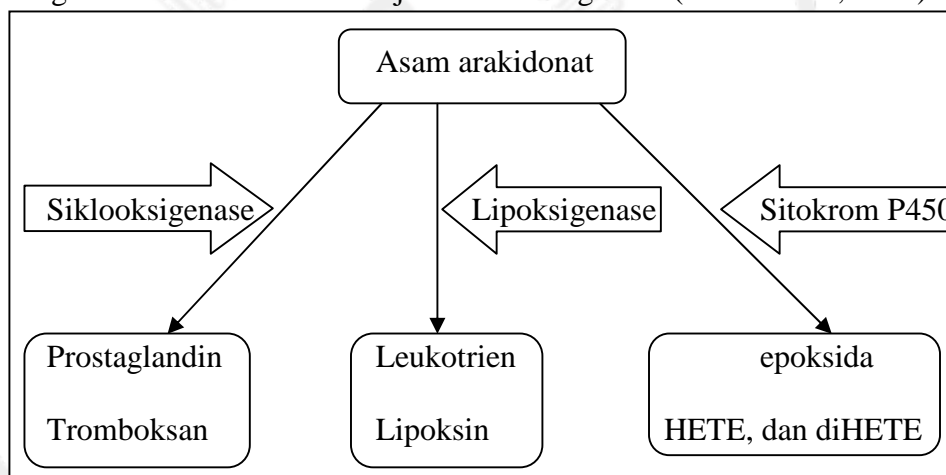
Mukosa lambung memiliki kemampuan luar biasa dalam memelihara keutuhan epitel setelah cedera superfisial. Sel-sel mukosa

lambung dengan cepat diganti yang baru dan sel-sel yang baru bergeser keatas menggantikan sel-sel superfisial yang lepas kedalam lumen. Pemulihan terjadi dengan migrasi sel-sel dari dalam *foveola* melalui proses yang umum disebut restitusi mukosa lambung. Migrasi epitel merupakan mekanisme pemulihan cepat setelah cedera kimiawi, suhu, hiperosmolar yang tidak sampai merusak lamina basal. Pada saat terjadi kerusakan, sepertiga bagian bawah epitel yang masih baik, dirangsang untuk bermigrasi diatas lamina basal bagian yang rusak dari epitel permukaan. Kemudian lamina basal ditutupi selapis tipis sel-sel gepeng atau kuboid, yang selanjutnya bertambah tinggi dan memperoleh kembali aktivitas sekresinya (Fawcett, 2002).

3. Prostaglandin

Prostaglandin termasuk ke dalam kelompok senyawa eikosanoid. Prostaglandin terdapat dalam setiap jaringan mamalia dan bekerja sebagai hormon setempat. Prostaglandin mempunyai aktivitas fisiologik dan farmakologik yang penting. Senyawa prostaglandin disintesis secara *in vivo* melalui proses siklisasi pusat rantai karbon asam lemak tak jenuh ganda 20-karbon (eikosanoat), membentuk cincin siklopentana (Mayes, 2003). Prostaglandin adalah asam lemak yang mengandung 20 atom karbon, termasuk sebuah cincin 5-karbon internal yang jenuh. Selain cincin ini, masing-masing prostaglandin memiliki sebuah gugus hidroksil di karbon 15, sebuah ikatan rangkap antara karbon 13 dan 14, dan berbagai substituen pada cincin (Marks *et al.*, 2000).

Prekursor prostaglandin adalah asam arakidonat, suatu asam lemak tidak jenuh ganda dengan 20 atom karbon dan 4 ikatan rangkap. Karena asam arakidonat tidak dapat disintesis *de novo* dalam tubuh, maka makanan harus mengandung asam arakidonat atau asam lemak lain yang dapat dibentuk menjadi asam arakidonat. Prekursor utama dalam makanan untuk sintesis asam arakidonat adalah asam lemak esensial linoleat. Terdapat tiga jalur untuk metabolisme asam arakidonat, yakni: jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase, dan jalur yang dikatalisis oleh sitokrom P450. Prostaglandin dihasilkan melalui jalur siklooksigenase (Marks *et al.*, 2000).



Gambar 3. Jalur metabolisme asam arakidonat.

Efek prostaglandin terhadap saluran pencernaan adalah memberi perlindungan terhadap mukosa lambung (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Banyak kelas dari obat-obatan, khususnya aspirin dan penghambat-penghambat spesifik dari *cyclooxygenase-2* (COX-2), yang berdasarkan efek-efek prinsip terapinya untuk menghentikan/menghambat pembentukan prostaglandin. Aspirin menghambat secara nonselektif COX-1 dan COX-2,

yang mana pada COX-1 berguna membentuk *prostaglandins* (Brunton *et al.*, 2008).

4. Aspirin

Aspirin merupakan obat anti-inflamasi non steroid (OAINS) kelas salisilat dengan gugus *acetyl ester* (Brunton *et al.*, 2008). Aspirin adalah nama obat generik untuk senyawa kimia asam asetilsalisilat, yang merupakan derivat asam salisilat (Auyang, 2004).

Pada pemberian oral, sebagian salisilat diabsorpsi dengan cepat dalam bentuk utuh dalam lambung, tetapi sebagian besar di usus halus bagian atas. Kadar tertinggi tercapai kira-kira 2 jam setelah pemberian. Kecepatan absorpsinya tergantung dari kecepatan disintegrasi dan disolusi tablet, pH permukaan mukosa, dan waktu pengosongan lambung. Aspirin diserap dalam bentuk utuh, dihidrolisis menjadi asam salisilat terutama dalam hati, sehingga hanya kira-kira 30 menit terdapat dalam plasma. Biotransformasi salisilat terjadi di banyak jaringan, tetapi terutama di mikrosom dan mitokondria hati. Salisilat diekskresi dalam bentuk metabolitnya terutama melalui ginjal, sebagian kecil melalui keringat dan empedu (Wilmana, 2001).

Selain itu kebanyakan obat bersifat asam sehingga lebih banyak terkumpul dalam sel yang bersifat asam seperti di lambung, ginjal, dan jaringan inflamasi. Efek samping yang paling sering terjadi adalah induksi tukak lambung atau tukak peptik yang kadang-kadang disertai anemia sekunder akibat perdarahan saluran cerna (Wilmana, 2001).

Dua mekanisme terjadinya iritasi lambung oleh aspirin ialah :

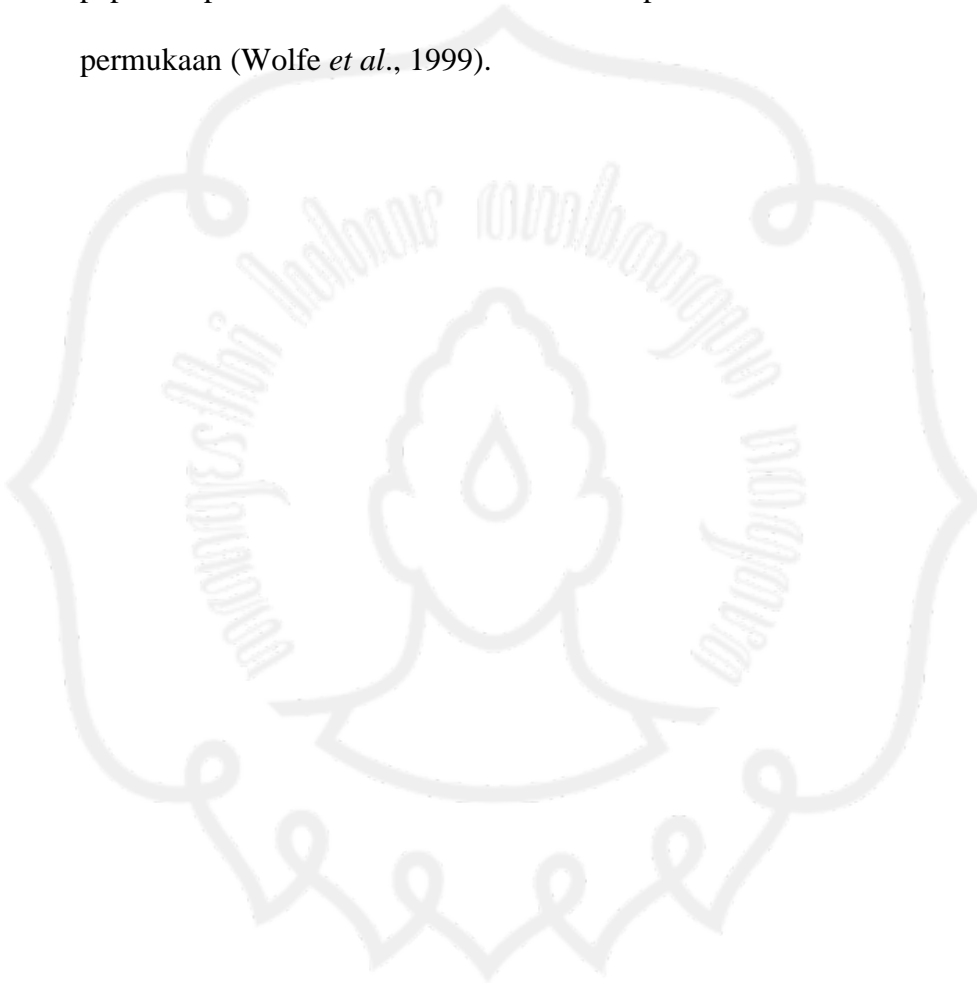
- a. Iritasi yang bersifat lokal yang menimbulkan difusi kembali asam lambung ke mukosa dan menyebabkan kerusakan jaringan.
- b. Iritasi atau perdarahan lambung yang bersifat sistemik melalui hambatan biosintesis PGE₂ dan PGI₂. Kedua PG ini banyak ditemukan di mukosa lambung dengan fungsi menghambat sekresi asam lambung dan merangsang sekresi mukosa usus halus yang bersifat sitoprotektif (Wilmana, 2001).

Aspirin menghambat secara nonselektif COX-1 dan COX-2, yang mana pada COX-1 berguna untuk membentuk *prostaglandins*; namun aspirin tidak menghambat jalur *lipoxygenase* yang berfungsi sebagai pembentukan *leukotrienes* (LTs) (Brunton *et al.*, 2008). Asetil sendiri menghambat dengan mengasetilasi gugus aktif serin dari enzim COX (Wilmana, 2001).

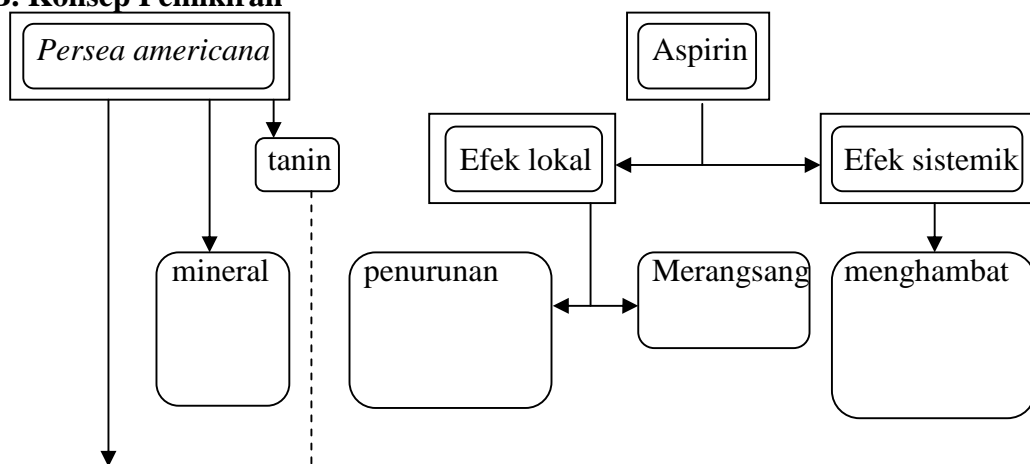
Efek aspirin (*acetylsalicylic acid*) merangsang pernapasan, meningkatkan ekskresi asam urat, memperpanjang masa perdarahan. Obat ini tidak boleh diberikan pada pasien dengan penyakit hati karena bersifat hepatotoksik; juga pada pasien dengan defisiensi vitamin K atau pasien dengan hipoprotrombinemia serta pasien hemofilia karena dapat menimbulkan perdarahan. (Wilmana, 2001).

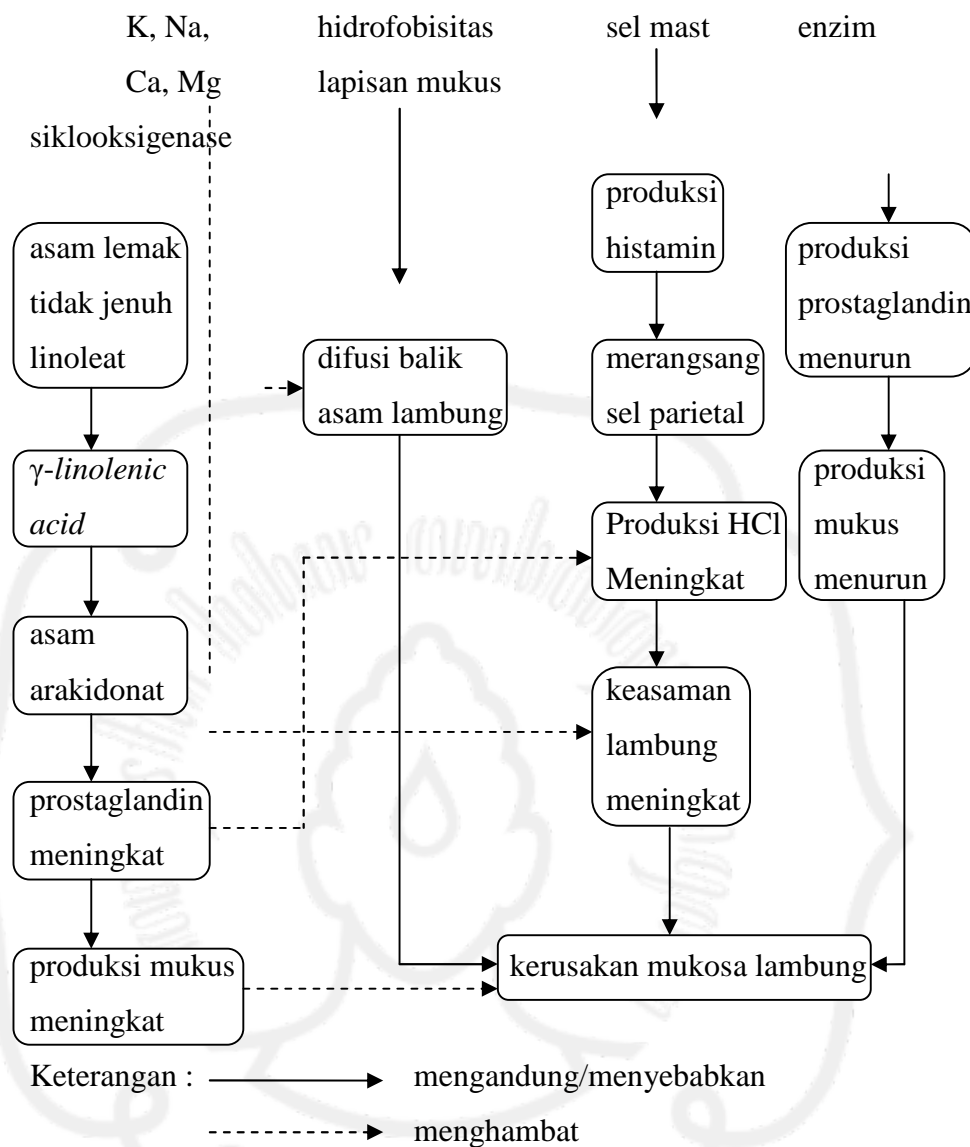
Aspirin dapat bereaksi terhadap sel mast yang kemudian sel mast akan mengeluarkan histamin (Silbernagl dan Lang, 2000), dengan adanya histamin akan merangsang sel parietal untuk mengeluarkan HCl, kemudian

sekresi pepsin oleh kelenjar eksokrin pada lambung meningkat sejalan dengan peningkatan sekresi asam lambung (Sjamsudin dan Dewoto, 2001). Aspirin juga dapat menyebabkan kerusakan mukosa dengan cara mengurangi hidrofobisitas mukus lambung, sehingga asam lambung dan pepsin dapat berdifusi masuk menembus lapisan mukus dan merusak epitel permukaan (Wolfe *et al.*, 1999).



B. Konsep Pemikiran





C. Hipotesis

Alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki efek proteksi terhadap kerusakan mukosa lambung yang diinduksi aspirin.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan (*experimental research*) yang diadakan di laboratorium. Peneliti memberikan perlakuan kepada subjek penelitian dan observasi dilakukan untuk membuktikan adanya efek perlakuan (Sastroasmoro, 2002).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Pelaksanaan penelitian dimulai bulan Januari 2010 hingga Juli 2010.

C. Subyek Penelitian

Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) dengan kelamin jantan, galur *Swiss webster*, sebanyak 30 mencit, berumur 6-8 minggu, dan massa ± 20 gram. Subjek diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada.

D. Teknik Pengambilan Sampel

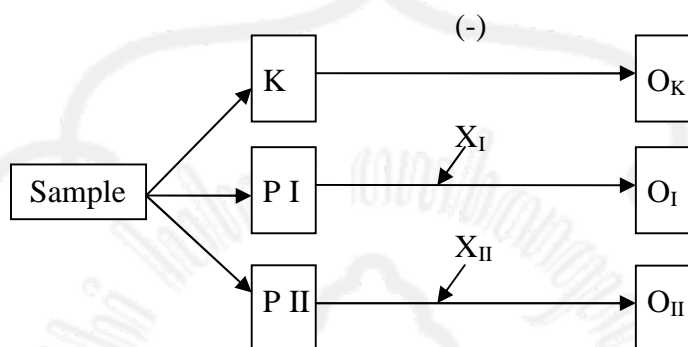
Pengambilan sampel dari populasi dilakukan secara *purposive sampling* sedangkan pengelompokan sampel dilakukan secara acak.

E. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan *The Posttest-Only Control Group Design*. Pada penelitian ini pengamatan hanya dilakukan sekali setelah perlakuan, karena tidak memungkinkan untuk melakukan pengamatan jaringan

lambung sebelum perlakuan (Setiawan, 2007). Sampel dibagi dalam 3 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri atas 10 ekor mencit. Kelompok terdiri atas kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P I), dan kelompok perlakuan 2 (P II).

Skema rancangan penelitian:



Keterangan :

K = Kelompok kontrol

P I = Kelompok perlakuan 1

P II = Kelompok perlakuan 2

X_I = Setiap mencit diberi aspirin dengan dosis 0,1 mL peroral setiap hari selama 7 hari.

X_{II} = Setiap mencit diberi alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 0,5 mL peroral setiap hari dan diberi aspirin dengan dosis 0,1 mL peroral setiap hari selama 7 hari.

O_K = Gambar mikroskopis mukosa lambung pada kelompok kontrol.

O_I = Gambar mikroskopis mukosa lambung pada kelompok perlakuan 1.

O_{II} = Gambar mikroskopis mukosa lambung pada kelompok perlakuan 2.

F. Alat-alat Penelitian dan Bahan-bahan Penelitian

1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat dalam penelitian ini adalah kandang hewan percobaan 3 buah (masing masing untuk 10 ekor mencit); timbangan duduk; timbangan neraca; timbangan obat; *canula*; *thermometer*; alat-alat hewan percobaan (pisau bedah, *scalpel*, pinset, gunting anatomis, jarum, meja lilin); alat-alat untuk pembuatan sediaan histologis; *microscope*; gelas ukur; dan *blender*.

2. Bahan-bahan Penelitian

a. Bahan-bahan untuk Perlakuan :

Hewan uji (30 ekor mencit), makanan hewan uji (pelet dan air PDAM), *aqua distillated*, buah alpukat (*Persea americana* Mill.), dan *aspirin*.

b. Bahan-bahan untuk Pembuatan Preparat (*slide*) :

Lambung mencit setelah perlakuan dan kontrol; *formalin* 10%; *alcohol* 70%; *toluol*; *xylol*; *paraffin* dengan titik cair 56-60°C, dan *stain: hematoxylin-eosin*.

G. Cara Kerja Penelitian

Sebelum perlakuan, mencit diadaptasikan terhadap lingkungan laboratorium histologi FK-UNS selama 3 hari serta diberi makan dan minum secara *ad libitum* kemudian pada hari ke-4 dilakukan penimbangan untuk menentukan dosis dan dilakukan proses perlakuan. Kemudian sampel dibagi 3 kelompok, masing-masing kelompok 10 ekor dengan cara acak.

Setiap kelompok diberi perlakuan selama 7 hari. Setelah perlakuan selesai, maka dilakukan pengambilan data. Pengambilan data dilakukan dengan pemeriksaan histologis. Pada hari ke-8 sejak awal perlakuan, semua hewan

percobaan dikorbankan dengan melakukan metode dislokasi pada regio servikal. Kemudian organ lambung bagian kurvatura minor diambil untuk selanjutnya dibuat preparat lambung dengan ketebalan 7-10 mikron. Metode yang digunakan adalah metode blok parafin dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE). Daerah kurvatura minor merupakan daerah dengan vaskularisasi minimal sehingga mudah rusak oleh zat-zat yang bersifat erosif terhadap lambung (Sangelorang, 1998). Daerah kurvatura minor juga merupakan daerah yang paling sering terjadi ulkus peptikum pada lambung (Guyton dan Hall, 2006). Pengambilan lambung pada daerah kurvatura minor juga ditujukan untuk penyeragaman sampel.

Setiap lambung yang diambil dibuat 3 irisan dan setiap irisan diobservasi seluruh lapang pandang dan dinilai berdasarkan gambaran kerusakan yang paling berat. Pengambilan irisan diberi jarak atau spasi. Pengamatan preparat dengan perbesaran 100X dan 400X untuk mengamati seluruh lapang pandang pada keseluruhan preparat. Pengamatan dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya kelainan pada lambung. Jadi dari tiap lambung mencit diperoleh 3 gambaran histologis yang masing-masing telah dikategorikan. Sehingga dari tiap kelompok mencit diperoleh 30 gambaran mikroskopis yang masing-masing telah dikategorikan. Kemudian data yang diperoleh diuji dengan uji statistik.

1. Penentuan dosis dan pembuatan larutan aspirin.

Dosis minimal aspirin untuk mengurangi secara signifikan lapisan mukus PGE2 pada lambung tikus (massa = 200 gram), yaitu 250 mg/KgBB

(Stickel, 1997). Menurut Laurence dan Bacharach (1964 dalam Donatus, 1994) faktor konversi dari tikus (massa = 200 gram) ke mencit (massa = 20 gram) adalah 0,14. Jadi dosis untuk mencit adalah $0,14 \times 250 = 35$ mg/kgBB atau untuk mencit dengan massa 20 gram = 0,7 mg aspirin.

Aspirin 500 mg dilarutkan dalam aquades hingga 59 mL, sehingga dalam 1 mL larutan aspirin mengandung 8,5 mg aspirin. Dosis pemberian aspirin peroral adalah 0,7 mg/20 gram massa mencit. Jadi jumlah yang diberikan yaitu 0,082 mL = 35 mg/kgBB mencit setiap kali pemberian. Preparat aspirin yang telah dilarutkan dalam aquades ini diberikan satu kali sehari, 1 jam setelah pemberian jus alpukat. Untuk memudahkan pemberian dosis 0,082 mL dibulatkan menjadi 0.1 mL.

2. Pembuatan jus alpukat.

Buah alpukat yang sudah masak ditimbang sebanyak 100 gram. Kemudian dihaluskan menggunakan blender dan ditambahkan air sebanyak 100 mL menjadi bentuk jus lalu disaring menggunakan saringan teh, sehingga menghasilkan cairan jus yang lebih halus. Pada penelitian ini, dosis diberikan langsung sebanyak 0,5 mL peroral setiap hari selama 7 hari, dengan alasan bahwa ukuran isi lambung mencit untuk berat ± 20 gram adalah 0,4-0,6 mL. Pemberian jus alpukat dilakukan 1 jam sebelum pemberian aspirin.

H. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Pemberian jus alpukat (*Persea americana* Mill.).

2. Variabel Terikat

Kerusakan histologis lambung.

3. Variabel Luar

- a. Variabel luar yang dapat dikendalikan: jenis keturunan, jenis kelamin, umur, massa, tempat penelitian, temperatur lingkungan, peralatan percobaan, dan jenis makanan.
- b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan: stres psikologis yang dialami mencit.

I. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas berupa pemberian jus alpukat.

Pemberian jus alpukat untuk kelompok perlakuan 2 (P II) dilakukan satu kali sehari selama 7 hari berturut-turut. Variabel ini mempunyai skala nominal.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat berupa kerusakan histologis lambung.

Kerusakan histologis lambung adalah gambaran mikroskopis lambung setelah pemberian aspirin, pemberian alpukat. Ada 3 tingkatan yang digunakan dalam penilaian gambaran histologis lambung.

- a. Normal, jika gambaran mikroskopis lambung tidak menunjukkan adanya kelainan. Untuk keperluan perhitungan statistik, diberi nilai 0.

- b. Kerusakan ringan, jika ditemukan adanya tanda-tanda peradangan pada mukosa lambung (gastritis), yaitu jika ditemukan hiperemia, edema, disertai sebaran sel-sel radang pada lamina propria, dan dapat pula disertai pelepasan sel epitel mukosa bagian superfisial dan sedikit perdarahan. Kerusakan ringan diberi nilai 1.
- c. Kerusakan berat, jika terdapat tanda-tanda peradangan pada mukosa lambung (gastritis), ditambah terdapat juga tanda-tanda ulkus, yaitu adanya pelepasan sebagian mukosa (yang melibatkan jaringan di bawah epitel) atau seluruh mukosa dan bahkan sampai pada tunika muskularis (Robbins dan Kumar, 1995). Kerusakan berat diberi nilai 2.

Variabel ini mempunyai skala ordinal. Dalam penilaian, dibedakan antara kerusakan mukosa yang sesungguhnya akibat induksi aspirin dengan kerusakan akibat proses manipulasi seperti adanya artefak.

3. Variabel Luar

a. Variabel luar yang dapat dikendalikan:

- 1) Jenis keturunan: mencit (*Mus musculus*) dengan galur: *Swiss webster*.
- 2) Jenis kelamin: jantan (♂).
- 3) Umur: 6-8 minggu.
- 4) Massa : ± 20 gram.
- 5) Tempat penelitian: laboratorium Histologi FK-UNS.
- 6) Temperatur lingkungan: suhu ruangan adaptasi dan perlakuan.
- 7) Peralatan percobaan: sama untuk setiap kelompok.

8) Jenis makanan: sama untuk setiap kelompok, diberikan pellet dan minuman dari air PDAM.

b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan:

Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan berupa stress psikologis yang dialami mencit. Kondisi psikologis mencit dipengaruhi oleh lingkungan sekitar. Lingkungan yang terlalu ramai, pemberian perlakuan yang berulang kali, dan perkelahian antar mencit dapat mempengaruhi kondisi psikologis mencit. Upaya untuk mengurangi kemungkinan terjadinya perkelahian antar mencit dapat dilakukan dengan pemberian makanan mencit yang cukup secara teratur dan jumlah mencit dalam satu kandang tidak terlalu banyak.

J. Teknik Analisis Data

Dari data hasil pengamatan dilakukan uji statistik terhadap hipotesis yang mencakup semua aspek dalam penelitian ini, yaitu: untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada semua kelompok adalah *Kruskal-Wallis H Test* sedangkan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata antara 2 kelompok dari semua kelompok tersebut (K dengan P I, K dengan P II, dan P I dengan P II) adalah *Mann-Whitney U Test*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian

Setelah dilakukan penelitian untuk mengetahui adanya efek proteksi alpukat (*Persea americana* Mill.) pada kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin dengan memeriksa gambar (*image*) mikroskopis didapatkan data hasil pengamatan pada setiap kelompok. Dari hasil pengamatan didapatkan gambar mikroskopis lambung pada *slide* berdasarkan kerusakan sel-sel *epithelial* permukaan (*surface epithelial damage*).

Setiap mencit dibuat 3 *image* lambung (3 preparat) pada setiap kelompok yang terdiri atas kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P I), dan kelompok perlakuan 2 (P II). Tiap preparat kemudian diamati, sehingga didapatkan hasil :

Tabel 1. Tingkat kerusakan lambung pada tiga kelompok mencit.

| Kelompok | Tingkat Kerusakan Lambung | | | Jumlah |
|----------|---------------------------|------------------|-----------------|--------|
| | Normal | Kerusakan ringan | Kerusakan berat | |
| K | 0 | 26 | 4 | 30 |
| P I | 0 | 2 | 28 | 30 |
| P II | 0 | 24 | 6 | 30 |

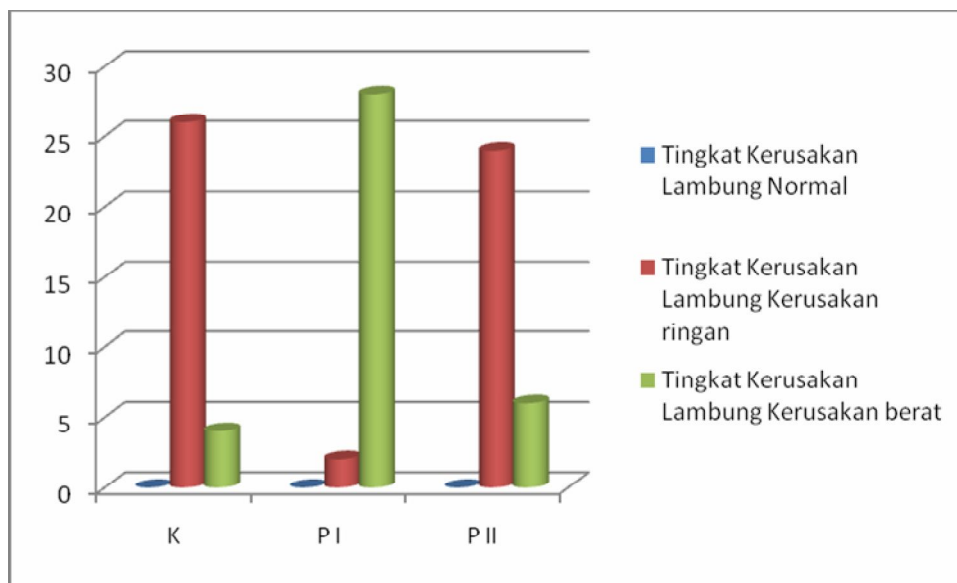
Sumber: Data Primer, 2010

Keterangan :

K : Kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan).

P I : Kelompok perlakuan 1 (setiap mencit diberi aspirin dengan dosis 0,1 mL peroral setiap hari selama 7 hari).

P II : Kelompok perlakuan 2 (setiap mencit diberi alpukat dengan dosis 0,5 mL peroral setiap hari dan diberi aspirin dengan dosis 0,1 mL peroral setiap hari selama 7 hari).



Gambar 4. Tingkat kerusakan mukosa lambung pada tiga kelompok mencit.

Dari hasil pengamatan mikroskop pada kelompok kontrol tidak didapatkan sampel dengan gambaran histologis yang normal, 26 sampel dengan tingkat kerusakan ringan, 4 sampel yang mengalami kerusakan berat. Pada kelompok P I, tidak didapatkan sampel dengan gambaran histologis yang normal, 2 tingkat kerusakan ringan, 28 sampel dengan tingkat kerusakan berat. Pada kelompok P II, tidak didapatkan sampel dengan gambaran histologis yang normal, 24 sampel dengan tingkat kerusakan ringan, dan 6 sampel dengan tingkat kerusakan berat.

B. Proses Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan secara mikroskopis diuji dengan uji statistik menggunakan software program SPSS.ver.17. Ada 2 uji statistik yang digunakan, yaitu :

1. Uji statistik *Kruskal-Wallis*, untuk mengetahui adanya perbedaan dalam seluruh kelompok populasi. Hasil yang diharapkan dalam uji ini adalah perbedaan yang bermakna atau terdapat perbedaan gambaran histologis lambung mencit diantara ketiga kelompok (kelompok K, P I, P II).
2. Uji statistik *Mann-Whitney*, untuk mengetahui letak adanya perbedaan dalam populasi. Uji ini dilakukan antara kelompok K dengan kelompok P I, kelompok K dengan kelompok P II, kelompok P I dengan kelompok P II. Hasil yang diharapkan dalam uji ini adalah diketahui antara kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna.

Dari hasil perhitungan statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai p adalah 0,000 dan nilai H hitung sebesar 47,923. Nilai ini lebih besar daripada harga χ^2_t pada tabel ($\alpha=0,05$ dan $df=2$) yaitu 5.991. Karena nilai H hitung $> \chi^2_t$ atau nilai $p < 0,05$ maka hipotesis nihil ditolak dan hipotesis kerja diterima. Jadi terdapat perbedaan bermakna di antara tiga kelompok sampel atau dengan kata lain terdapat perbedaan gambaran histologis pada seluruh kelompok perlakuan tanpa diketahui kelompok mana yang berbeda. Hasil perhitungan uji *Kruskal-Wallis* dengan program SPSS dapat dilihat pada lampiran 2.

Karena terdapat perbedaan yang bermakna di antara tiga kelompok sampel, maka uji statistik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Dari hasil uji *Mann-Whitney* ($\alpha=0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K dan P I, P I dan P II. Sedangkan antara kelompok K dan P II terdapat perbedaan yang tidak bermakna. Data ringkasan hasil perhitungan dengan uji *Mann-Whitney* ($\alpha=0,05$) dapat dilihat pada tabel 2. Adapun data mengenai

perhitungan uji *Mann-Whitney* dengan program SPSS dapat dilihat pada lampiran 2.

Tabel 2. Hasil perhitungan dengan uji *Mann-Whitney* ($\alpha=0,05$).

| Kelompok | U hitung | U tabel | <i>p</i> | Signifikansi |
|-----------------|----------|---------|----------|------------------|
| K dengan P I | 90 | 317 | 0,000 | Signifikan |
| K dengan P II | 420 | 317 | 0,492 | Tidak Signifikan |
| P I dengan P II | 120 | 317 | 0,000 | Signifikan |

Sumber : Data Primer, 2010.

Keterangan:

K : Kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan).

P I : Kelompok perlakuan 1 (setiap mencit diberi aspirin dengan dosis 0,1 mL peroral setiap hari selama 7 hari).

P II : Kelompok perlakuan 2 (setiap mencit diberi alpukat dengan dosis 0,5 mL peroral setiap hari dan diberi aspirin dengan dosis 0,1 mL peroral setiap hari selama 7 hari).

U hitung: Nilai U hasil perhitungan.

U tabel : Nilai U pada tabel dengan $\alpha=0,05$; $n I=30$ dan $n II=30$.

Setelah dilanjutkan dengan uji statistik *Mann-Whitney* didapatkan hasil perbedaan yang bermakna antara kelompok K dengan kelompok P I dan kelompok P I dengan kelompok P II. Adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K dan kelompok P1 menunjukkan bahwa aspirin dapat menginduksi terjadinya kerusakan pada mukosa lambung.

Pada uji *Mann-Whitney* antara kelompok P I dengan P II, terdapat perbedaan yang bermakna. Sebagian besar sampel kelompok P II menunjukkan

gambaran kerusakan ringan, yang secara statistik berbeda dengan kelompok P I yang sebagian besar sampel menunjukkan gambaran yang mengalami kerusakan berat. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jus alpukat mengurangi kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin.

Pada hasil uji *Mann-Whitney* antara kelompok K dengan kelompok P II, terdapat perbedaan yang tidak bermakna. Perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok K dengan kelompok P II, menunjukkan bahwa jus alpukat dapat mengurangi kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin mendekati gambaran mukosa lambung mencit pada kelompok K.

BAB V

PEMBAHASAN

Berdasarkan data-data yang diperoleh dari hasil penelitian di bawah mikroskop, menunjukkan adanya pengaruh pemberian jus alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap derajat kerusakan mukosa lambung mencit yang diinduksi aspirin. Data hasil penelitian tersebut dapat dibahas sebagai berikut.

Pada kelompok K, didapatkan sampel dengan kerusakan berat sebanyak 4 sampel dan 26 sampel dengan kerusakan ringan, ini disebabkan karena pada kelompok K tidak diberikan perlakuan apapun, baik faktor agresif maupun faktor defensif lambung. Hal ini sesuai dengan keadaan normal lambung, dimana kecepatan sekresi cairan lambung seimbang dengan mekanisme pertahanan sawar mukosa lambung (Guyton dan Hall, 2006). Pada kelompok K tidak terdapat

sampel yang menunjukkan gambaran normal. Hal ini mungkin karena adanya variabel luar yang tidak bisa dikendalikan, seperti kondisi psikologis mencit. Mungkin selama digunakan dalam penelitian ini mencit pada kelompok K mengalami stress berat sehingga sekresi asam lambung menjadi meningkat secara berlebihan atau mungkin juga karena kondisi awal lambung mencit ini sudah mengalami kelainan (gastritis).

Pada kelompok P I, didapatkan sebagian besar sampel dengan kerusakan berat, yakni sebanyak 28 sampel dari 30 sampel. Hasil ini dapat dijelaskan karena pada kelompok P I mendapatkan pemberian aspirin sebagai faktor agresif lambung tanpa adanya penambahan faktor defensif lambung. Pemberian aspirin sebagai faktor agresif lambung, tanpa adanya penambahan faktor defensif lambung mengakibatkan kerusakan lambung. Hal ini sesuai teori dimana disebutkan bahwa aspirin dengan beberapa mekanisme patofisiologinya dapat menyebabkan kerusakan sawar (barier) mukosa lambung, baik secara lokal maupun sistemik (Wilmana, 2001). Disebutkan ada 2 mekanisme aspirin dalam menyebabkan kerusakan lambung. Yang pertama adalah efek topikal berupa meningkatnya histamin yang diikuti meningkatnya sekresi asam dan peningkatan permeabilitas (Silbernagl dan Lang, 2000). Dan kedua adalah efek sistemik yang menghambat sintesis prostaglandin (Wilmana, 2001). Dimana prostaglandin berfungsi memberi perlindungan terhadap mukosa lambung (Despopoulos dan Silbernagl, 2003), dengan mekanisme menghambat sekresi asam lambung dan merangsang sekresi mukosa usus halus yang bersifat sitoprotektif (Wilmana, 2001).

Pada kelompok P II, selain mendapatkan pemberian aspirin juga dilakukan pemberian jus alpukat. Pemberian jus alpukat adalah sebagai faktor defensif lambung. Didapatkan jumlah sampel dengan kerusakan berat hanya 6 sampel sedangkan sebagian besar sampel dengan kerusakan ringan. Terjadi penurunan jumlah kerusakan berat, dapat dijelaskan karena adanya alpukat yang berfungsi sebagai pelindung lambung. Hal ini disebabkan kandungan tanin yang terdapat pada jus alpukat mempunyai efek *astringent*. *Astringent* merupakan sifat dari suatu zat yang menyebabkan terbentuknya presipitasi protein pada permukaan sel (Salawu *et al.*, 2009) sehingga akan melapisi permukaan sel-sel lambung. Kandungan mineral seperti *potassium*, *sodium*, kalsium, magnesium dalam alpukat dapat menetralkan asam lambung yang berlebihan sehingga keasaman lambung tetap terjaga (Ali, 2006). Kandungan asam lemak tidak jenuh yang terdapat pada buah alpukat merupakan prekursor prostaglandin yang berfungsi dalam pembentukan mukus pada lapisan mukosa lambung (Flider, 2005).

Hal yang mendukung adanya efek gastroprotektif jus buah alpukat adalah penelitian yang dilakukan oleh Atmaja, dari Fakultas Kedokteran UNS pada tahun 2008. Pada penelitian tersebut menyatakan bahwa daun sendok dengan kandungan tanin dan mineral seperti *potassium*, *sodium*, kalsium, magnesium yang diberikan secara oral pada mencit yang telah diinduksi aspirin terbukti mempunyai efek gastroprotektif. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ajie, dari Fakultas Kedokteran UNS pada tahun 2008 disebutkan bahwa pemberian lidah buaya yang mengandung *Gamma-linolenic acid* (GLA) yang diberikan secara oral pada mencit yang telah diinduksi aspirin terbukti mempunyai efek gastroprotektif. GLA

disintesis oleh tubuh dari asam linoleat (Thorne Research, 2004), yakni asam lemak tidak jenuh yang banyak terkandung dalam alpukat (Kardarron, 2009).

Pada kelompok P I maupun P II tidak terdapat sampel yang menunjukkan gambaran normal. Kemungkinan yang terjadi adalah sama seperti pada kelompok K, yaitu karena adanya variabel luar yang tidak bisa dikendalikan, seperti kondisi psikologis mencit dan kondisi awal lambung mencit sudah mengalami kelainan. Untuk menghindari hal ini, perlu dilakukan pemeriksaan awal mencit untuk mengetahui kondisi awal lambung mencit dengan cara mengorbankan salah satu mencit kemudian diamati.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Pemberian jus alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan mukosa lambung mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aspirin.

B. Saran

Saran pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan pada hewan coba mengenai toksisitas akut dan toksisitas jangka panjang jus alpukat, sehingga dapat diketahui efek samping dan dosis terapeutik.

2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yang lebih berkembang terhadap manusia, karena hasil penelitian pada hewan belum tentu sama dengan manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Ajie U.W.M. 2008. *Efek Proteksi Lidah Buaya (Aloe vera [L.] Burm. f.) terhadap Kerusakan Mukosa Lambung Bagian Corpus Mencit (Mus musculus [L.]) yang Diinduksi Aspirin*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Skripsi.
- Ali I. 2006. *Mengatasi Gangguan Pencernaan Dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: Agromedia Pustaka, pp. 22-38.
- Arbie R. 2003. Penanggulangan Rasa Sakit Dengan Analgetika Dalam Bentuk Obat Bebas. *USU digital library*; 1-5. <http://library.usu.ac.id/download/fk/farmakologi-rosihan.pdf> (20 September 2008).
- Arif A. dan Sjamsudin U. 2001. Obat Lokal. Ganiswarna, S. G. ed. IV. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: FKUI, pp. 501-507.
- Arifin H. 2008. *Dilema Obat Bebas*. http://www.waspada.co.id/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=33233 (31 Agustus 2008).
- Atmaja F.K. 2008. *Efek Gastroprotektor Ekstrak Daun Sendok (Plantago mayor Linn.) Terhadap Kerusakan Histologis Mukosa Lambung Mencit yang Diinduksi Aspirin*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Skripsi.
- Auyang S.Y. 2004. *From experience to design—The science behind Aspirin*. <http://www.creatingtechnology.org/biomed/aspirin.pdf> (26 Desember 2009).
- Badan POM. 2003. Obat Anti Inflamasi Non Steroid (OAINS). *InfoPOM*. vol. 4. ed. III. (Maret): 1-4.
- Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, 2005. *Tanaman Obat Indonesia: Alpukat*. <http://www.ipteknet.com> (31 Oktober 2009).

- Bappenas. 2000. *Alpukat/Avokad*. Editor: Prihatman K. <http://www.ristek.go.id> (28 Maret 2009).
- Billiet P. 2003. *Critical Values for the Mann-Whitney U-Test*. <http://www.saburchill.com/IBbiology/downloads/002.pdf>. (20 Januari 2010)
- Borrelli F. and Izzo A.A. 2000. The Plant Kingdom as a Source of Anti-ulcer Remedies. *Phytother. Res.* 14, 581–591.
- Brunton L.L., Parker K.L., Blumenthal D.K., and Buxon I.L.O. 2008. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11th ed. New York: McGraw-Hill, pp. 623-635.
- Del Valle J. 2005. Peptic Ulcer Disease and Related Disorder. Harrison, T. R. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. New York: McGraw-Hill, pp. 1746-1830.
- Despopoulos A. and Silbernagl S. 2003. *Color Atlas of Physiology*. 5th ed. Stuttgart: Thieme, pp. 240-243.
- Donatus, I.A. 1994. *Petunjuk Praktikum Toksikologi*. ed. I. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.
- Fawcett D. W. and Bloom. 2002. *Buku Ajar Histologi*. ed. XII. Alih bahasa: Jan Tambayong. Jakarta: EGC, pp. 530-550.
- Fitrie A.A. 2004. Histologi Lambung. *e-USU Repository*. 1-9. <http://library.usu.ac.id/download/fk/histologi-alya.pdf> (20 September 2008).
- Flider F.J. 2005. GLA: Uses and new sources. In: *Health and Nutrition*. vol. 16. (5) (May): 279-282.
- Guyton A.C. and Hall J.E. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. 11th. Philadelphia: Elsevier Inc., pp. 791-825.

- Kardarron D. 2009. *Nutrisi: Alpukat*. <http://www.asiamaya.com> (31 Oktober 2009).
- Lelo A., Hidayat D.S., dan Juli S. 2004. Penggunaan Anti-Inflamasi Non-Steroid Yang Rasional Pada Penanggulangan Nyeri Rematik. *e-USU*.
- Marks D.B., Mark A.D., dan Smith C.M. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar Sebuah Pendekatan Klinis*. ed. I. Alih bahasa: Brahm U. Pendit. Jakarta: EGC, pp. 533-542.
- Mayes P.A. 2003. Metabolisme Asam Lemak Takjenuh dan Eikosanoid. Murray *et al. Biokimia Harper* .ed. XXV. Alih bahasa: Andry Hartono. Jakarta: EGC, pp. 236-244.
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2004. What I need to know about Peptic Ulcers. *NIH Publication*. no. 05-5042.
- Robbins S.L. dan Kumar V. 1995. *Buku Ajar Patologi II*. ed. IX. Alih bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Airlangga. Jakarta: EGC, pp. 242-250.
- Salawu O.A., Tijani A.Y., Obidike I.C., Rafindadi H.A., and Emeje M. 2009. Anti-ulcerogenic properties of methanolic root extract of *Piliostigma reticulatum* (DC) Hochst (Syn. *Bauhinia reticulata* DC) -Leguminosae in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. vol. 3(5), pp. 252-258.
- Sastroasmoro S. dan Ismael S. 2002. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. ed. II. Jakarta: Sagung Seto, pp. 39-46.
- Setiawan B. 2007. Rancangan Percobaan. Tjokronegoro A. dan Sudarsono S. *Metodologi Penelitian Bidang Kedokteran*. ed. VI. Jakarta: FKUI, pp. 153-166.
- Silbernagl S. and Lang F. 2000. *Color Atlas of Pathophysiology*. 5th ed. Stuttgart: Thieme, pp. 134-147.

- Sjamsudin U. dan Dewoto H.R. 2001. Histamin dan Anti-alergi. Ganiswarna S.G. ed. IV. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: FKUI, pp. 248-261.
- Stickel F. 1997. Effect of Vitamin E Supplementation on Prostaglandin Concentrations in Aspirin-Induced Acute Gastric Injuring Aged Rats. *Am J Clin Nutr* 66: 1218-23.
- Talogo, R. Widodo. 2007. Pemilihan Uji Statistik. Tjokronegoro, A. dan Sudarsono, S. Metodologi Penelitian Bidang Kedokteran. ed. VI. Jakarta: FKUI, pp. 153-166.
- Thorne Research. 2004. Gamma-Linolenic Acid (GLA). *Alternative Medicine Review*. vol. 9. no. 1, pp. 70-77.
- Wilmana P.F. 2001. Analgesik, Antipiretik, Analgesik, Anti-Inflamasi Non-steroid, dan Obat Pirai. Ganiswarna S.G. ed. IV. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: FKUI, pp. 207-222.
- Wolfe M.M., Lichtenstein D.R., and Singh G. 1999. Gastrointestinal Toxicity of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *N Engl J Med* 341:548.
- Zulkifli. 2004. Pengobatan Tradisional Sebagai Pengobatan Alternatif Harus Dilestarikan. *USU digital library*; 1-6. <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-zulkifli5.pdf> (20 September 2008).