

Efektivitas Madu Murni Sebagai Antioksidan dan Gastroprotektif Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley

Sesilia Bella Tanny^{1*},
Erma Mexcorry Sumbayak²,
Anna Maria Dewajanti³,
Flora Rumiati⁴

¹ Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia.

²Departemen Histopatologi Anatomi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia.

³Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia.

⁴Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Krida Wacana, Jakarta, Indonesia.

Abstrak

Gastritis merupakan kondisi terjadi inflamasi pada lapisan permukaan lambung yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah obat anti inflamasi non steroid atau OAINS. Obat OAINS yang sering digunakan yaitu aspirin, aspirin dengan dosis 600 mg/kgBB dapat menyebabkan kerusakan pada lambung secara akut. Madu dengan 30 mL/hari atau setara 2 sendok makan memberikan efek gastroprotektif atau perlindungan dan penyembuhan bagi kerusakan lambung karena mengandung antioksidan yang menurunkan tingkat kerusakan pada lambung. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui efektivitas antioksidan dan gastroprotektif madu murni pada tikus *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley yang diinduksi aspirin secara oral. Penelitian menggunakan metode eksperimental laboratorium, dimana dilihat efektivitas madu murni sebagai antioksidan dan gastroprotektif selama 11 hari. Subjek yang digunakan adalah *Rattus norvegicus* sebanyak 25 ekor. Hasil didapatkan bahwa berdasarkan skor histopatologi, pemberian madu 0,5 mL/kgBB selama 4 hari pada hewan coba dapat secara signifikan mengurangi kerusakan lambung akibat induksi aspirin 600 mg/kgBB. Tetapi, jika dilihat dari hasil data kadar GSH belum ada pengaruh yang signifikan dari pemberian madu terhadap kadar GSH hewan coba.

Kata kunci: antioksidan, aspirin, gastritis, gastroprotektif, madu

The Effectiveness of Pure Honey as Antioxidant and Gastroprotective in Sprague Dawley Rats (*Rattus norvegicus*)

*Corresponding Author : Erma Mexcorry Sumbayak

Corresponding Email : erma.sumbayak@ukrida.ac.id

Submission date : December 5th, 2024

Revision date : December 9th, 2024

Accepted date : December 13th, 2024

Published date : December 20th, 2024

Copyright (c) 2024 Sesilia Bella Tanny, Erma Mexcorry Sumbayak, Anna Maria Dewajanti, Flora Rumiati



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License.

Abstract

Gastritis is a condition where inflammation occurs in the surface lining of the stomach which can be caused by several factors, one of which is non-steroidal anti-inflammatory drugs or NSAIDs. The most commonly used NSAIDs are aspirin, aspirin at a dose of 600 mg/kg can cause acute damage to the stomach. Honey with 30 ml/day or the equivalent of 2 tablespoons provides a gastroprotective effect or protection and healing for stomach damage because it contains antioxidants which reduce the level of damage to the stomach. The purpose of this study was to determine the antioxidant and gastroprotective effectiveness of pure honey in *Rattus norvegicus* Sprague Dawley rats induced by oral aspirin. This study used a laboratory experimental method which examined the effectiveness of pure honey as an antioxidant and gastroprotective for 11 days. The subjects used were 25 *Rattus norvegicus*. The results showed that based on histopathological scores, administration of 0.5 mL/kgBB honey for 4 days in experimental animals could significantly reduce gastric damage induced by aspirin 600 mg/kgBB. However, when viewed from the results of the data on GSH levels, there was no significant effect of giving honey on GSH levels in experimental animals.

Keywords: antioxidant, aspirin, gastritis, gastroprotective, honey

How to Cite

Tanny SB, Sumbayak EM, Dewajanti AM, Rumiati F. The Effectiveness of Pure Honey as Antioxidant and Gastroprotective in Sprague Dawley Rats (*Rattus norvegicus*). *JMedScientiae*. 2024;3(3): 276-286. Available from: <https://ejournal.ukrida.ac.id/index.php/ms/article/view/3481>
DOI: <https://doi.org/10.36452/JMedScientiae.v3i3.3481>

Pendahuluan

Gastritis atau maag disebabkan karena peradangan di lapisan permukaan lambung seperti mukosa lambung dan submukosa yang bersifat akut dan kronik. Aspirin atau asam asetil salisilat memiliki banyak fungsi seperti digunakan dalam terapi antipiretik, analgesik, dan anti inflamasi. Namun ternyata aspirin yang paling sering menyebabkan ulkus lambung.¹

Madu merupakan bahan herbal dari zaman dulu yang sudah dipakai dan memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, salah satunya sebagai pelindung bagi lambung atau gastroprotektif. Berdasarkan penelitian sebelumnya, Rahmah (2021) madu yang dapat memberikan efek yang efektif terhadap perlindungan lambung berupa penurunan sel-sel radang pada tunika mukosa adalah madu dosis 30 ml/hari dalam dosis manusia atau setara dengan 2 sendok makan.² Pemakaian madu sebagai efek gastroprotektif akan dibuktikan pada penelitian ini dengan menguji kadar antioksidan yaitu GSH (glutation tereduksi). GSH merupakan salah satu jenis antioksidan yang diproduksi secara alami oleh tubuh.³

Metodologi

Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2022 di Laboratorium Hewan Falkutas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana. Subjek penelitian adalah tikus putih jantan *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dawley* berusia 2-3 bulan dengan berat badan \pm 200 g yang diberi induksi aspirin 600 mg/kgBB tikus secara oral pada tikus dan larutan madu sebanyak 1 mL dan telah lolos kaji etik dari Komisi Etik Penelitian Media dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana (UKRIDA) dengan nomor: 1295/SLKE-IM/UKKW/FKIK/KE/VII/2022.

Madu yang digunakan adalah madu murni dari peternakan madu di Cibubur. Hal ini karena peneliti ingin komposisi yang didapatkan dari madu adalah komposisi yang benar-benar murni dan tidak tercampur dengan bahan kimia lain. Setelah madu didapatkan madu disimpan di dalam suhu ruangan supaya tidak mengurangi kualitas mutu madu.⁴

Perhitungan dosis madu dihitung dengan menggunakan dosis pertama setara dengan dosis untuk manusia yaitu 30 mL. Nilai konversi \times 30 mL madu = $0,018 \times 30$ mL madu = 0,5 mL/kg BB tikus. Sehingga dosis yang

dipakai adalah 0,1 ml madu. Aspirin yang dibutuhkan untuk tikus dengan berat 200 g adalah 120 mg /200 gBB tikus (dalam 1 mL larutan). Kemudian dibuatkan larutan stok sebanyak 100 mL sehingga didapatkan 12 g/mL aspirin dalam 100 mL larutan stok.

Dilakukan pengelompokan hewan sebanyak 5 kelompok berdasarkan terapi terhadap inflamasi lambung pada tikus putih seperti berikut: 1) Kelompok kontrol negatif yaitu kelompok tikus putih sehat yang hanya diberikan makanan, dan minuman dari awal atau masa aklimatisasi sampai selesai penelitian, 2) Kelompok kontrol positif yaitu kelompok tikus putih yang mengalami luka lambung oleh karena pemberian aspirin 600 mg/kgBB tikus selama 3 hari, tanpa diberikan perlakuan, 3) Kelompok perlakuan 1, dimana tikus putih mengalami luka lambung karena pemberian aspirin 600 mg/kgBB tikus, makanan, dan minuman selama 3 hari, setelah 3 hari diberikan larutan madu 1 ml/kgBB tikus selama 2 hari, 4) Kelompok perlakuan 2, dimana tikus putih mengalami luka lambung karena pemberian aspirin 600 mg/kgBB tikus, makanan, dan minuman selama 3 hari, setelah 3 hari diberikan larutan madu 1 ml/ kgBB tikus selama 4 hari, dan 5) Kelompok perlakuan 3, dimana tikus putih mengalami luka lambung karena pemberian aspirin 600 mg/kgBB tikus, makanan, dan minuman selama 3 hari, setelah 3 hari diberikan larutan madu 1 ml/ kgBB tikus selama 8 hari.

Sebelum perlakuan tikus dilakukan adaptasi selama 1 minggu di dalam laboratorium hewan. Pada saat masa adaptasi, tikus putih diberikan makan secara *ad libitum*, minum, dan tikus dilakukan penimbangan berat badan.

Pengujian antioksidan pada plasma darah tikus dilakukan dengan menggunakan metode pengukuran kadar GSH. Sebelum dilakukan perlakuan dengan madu, sampel darah diambil untuk pengukuran sebagai pembandingan (H_0). Setelah itu dilakukan pengambilan sampel plasma darah dari vena orbita terhadap tikus dengan luka lambung pada hari ke 2 (H2), 4 (H4), dan 8 (H8) setelah pemberian madu.⁵ Metode pengukuran kadar GSH dimulai dengan mengambil darah 0,250 mL yang dimasukkan ke dalam tabung yang sudah berisi DNTB 0,05 mL, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit untuk mendapat plasma yang

digunakan untuk mengukur kadar GSH. Pereaksi DNTB dibuat dengan cara melarutkan bubuk DTNB sebanyak 39.6 mg dalam 10 mL dapar fosfat 0.1 M pH 7.⁶

Pembuatan kurva standar GSH dengan menggunakan larutan standar (glutation) konsentrasi 2 mg/ml dalam dapar fosfat 0,1 M dengan pH 8,0. Kemudian dibuat beberapa konsentrasi dengan cara pengenceran dalam beberapa tabung reaksi berisi larutan standar tersebut sebagai berikut : 0,0 μ L, 12,5 μ L, 25,0 μ L, 50,0 μ L, 100,0 μ L, dan 200,0 μ L. Setelah itu, ditambahkan ke dalam masing-masing tabung dapar fosfat 0,1 M dengan pH 8,0 hingga volume mencapai 9 mL. Ketika telah mencapai 9 mL, ditambahkan 1 mL larutan TCA 5% dan dicampur menggunakan vorteks hingga homogen. Setelah itu, diambil 4,0 mL dari masing-masing tabung dan ditambahkan 0,05 mL reagen DTNB, sisa dari setiap tabung dijadikan blanko.⁶

Kemudian larutan di inkubasi selama 1 jam dalam ruang gelap. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan atau absorban beberapa larutan standar tersebut menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 412 nm. Dari hasil pengukuran serapan atau absorban, dibuat kurva regresi linear dengan menghubungkan nilai serapan sebagai ordinat (y) dan konsentrasi larutan standar sebagai absis (x), sehingga diperoleh persamaan $y = ax + b$.⁶

Plasma yang telah didapat dilakukan pengukuran sampel plasma untuk pengukuran kadar GSH. Caranya adalah menambahkan 8,90 mL dapar fosfat pH 8 dan 1 mL TCA 5% ke dalam tabung berisi 0,250 mL sampel plasma darah kemudian dicampur hingga homogen. Kemudian larutan di sentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah itu, diambil 4,0 mL dari tabung tersebut dan ditambahkan 0,05 mL reagen DTNB, sisa dari tabung dijadikan blanko. Kemudian larutan diinkubasi selama 1 jam dalam ruang gelap sebelum pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 412 nm.⁶ Untuk menetapkan kadar GSH sampel darah tikus penelitian, digunakan persamaan regresi linear dari kurva larutan standar (glutation), $y = ax + b$ di mana (y) adalah absorban dan (x) merupakan konsentrasi.⁶

Menurut teori pada mekanisme aspirin dapat membuat inflamasi pada lambung maka untuk membuat inflamasi pada lambung tikus, peneliti membutuhkan aspirin dengan dosis 600

mg/kgBB tikus putih.⁷ Pemberian aspirin diberikan secara oral atau melalui sonde. Aspirin akan diberikan selama 3 hari dan sudah diencerkan terlebih dahulu dengan aquades. Pemberian aspirin hanya dilakukan 1 kali dalam sehari. Setelah itu baru dilanjutkan dengan pemberian madu untuk melihat efek gastroprotetif pada madu.

Perubahan histopatologi yang terjadi pada lambung tikus dapat dilihat dengan terdapat tanda-tanda inflamasi yang paling sering seperti adanya infiltrasi sel radang, nekrosis, edema pada jaringan.

Setelah dilakukan perlakuan pemberian aspirin dan madu pada tikus putih jantan maka untuk melihat pengaruh terhadap organ tikus dibutuhkan proses pembedahan atau nekropsi. Tikus dikorbankan dengan cara dislokasi servikal, kemudian organ lambung diambil. Organ lambung akan difiksasi dengan larutan netral buffer formalin 10% berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Mustaba *et al.* (2022). Kemudian, organ lambung akan dikirim ke laboratorium patologi anatomi untuk dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE).⁸

Analisis data

Data mikroskopis histopatologi diuji menggunakan *Kruskal Wallis* dan *Mann-Whitney*. Uji *Kruskal Wallis* menandakan bahwa adanya pengaruh bermakna dari kelompok perlakuan terhadap skor histopatologi dengan membandingkan kelima kelompok secara bersamaan sedangkan Uji *Mann-Whitney* akan membandingkan dengan cara melihat sepasang kelompok. Jika $p \text{ value} < 0,05$ artinya terdapat perbedaan yang signifikan dan sebaliknya.

Data kadar GSH diuji normalitas dengan *test of normality Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah sampel kurang dari 50. Jika, hasil $p \text{ value}$ pada tes *normality* $>0,05$ menandakan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian akan diuji *One-Way Anova* untuk menandakan bahwa diantara semua kelompok penelitian minimal terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna. Jika bermakna akan diuji *Paired Sample T-Test* dilakukan untuk melihat apakah adanya proses penyembuhan pada rata-rata kadar GSH lambung antar kelompok perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Pemeriksaan Madu

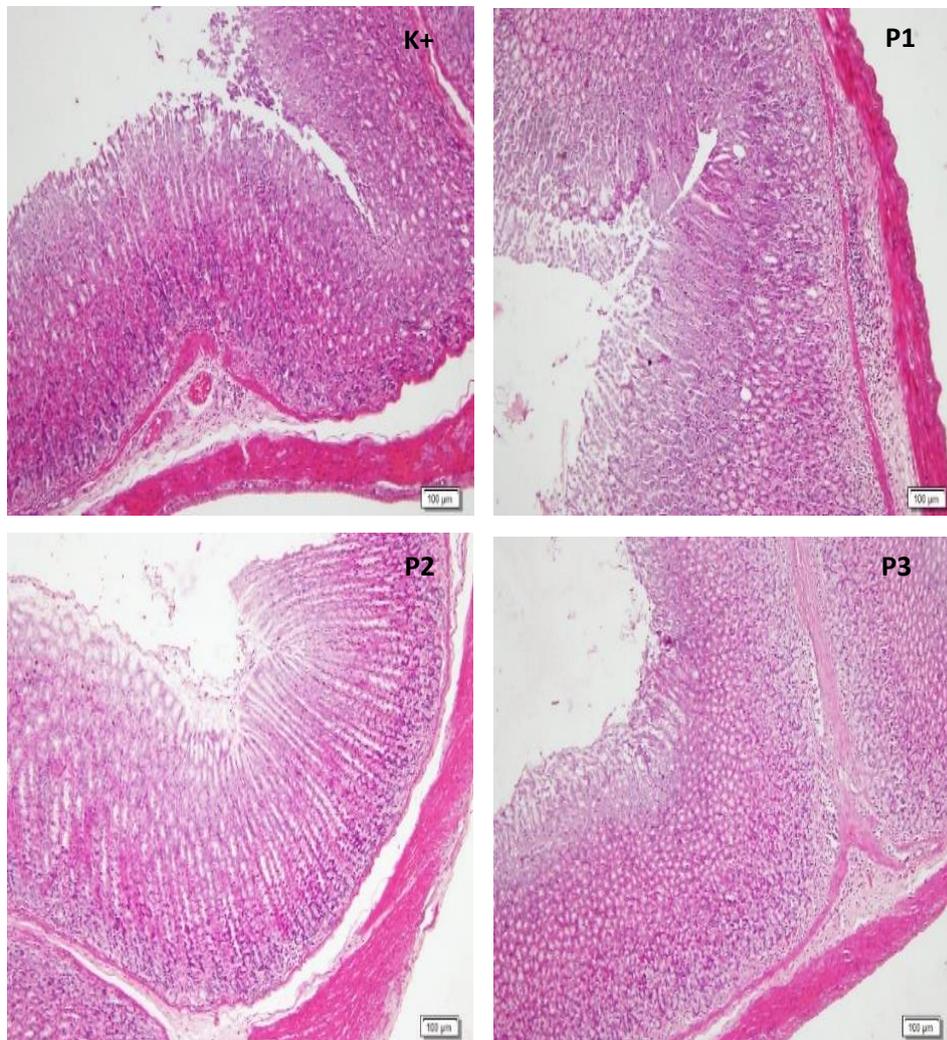
Pemeriksaan kemurnian madu pada penelitian ini dilakukan dengan uji konvensional dengan parameter uji larut, keruh dan buih, pemanasan, dan segienam. Berdasarkan hasil uji pada Tabel 1 dapat menjelaskan bahwa madu yang digunakan pada penelitian adalah madu murni.

Tabel 1. Uji Konvensional Kemurnian Madu

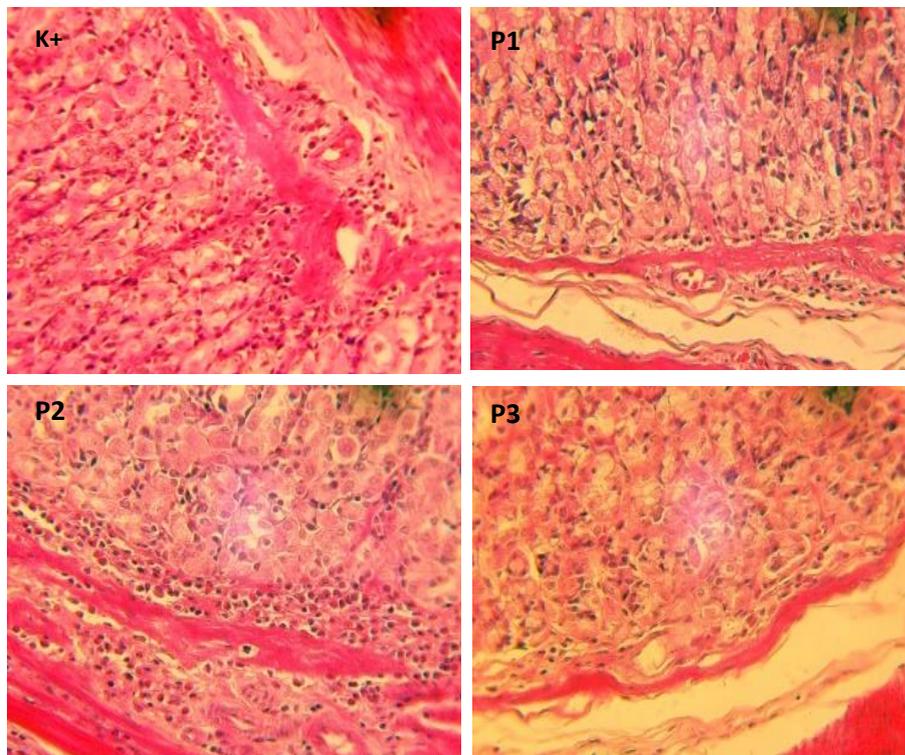
Uji kemurnian Madu	Hasil
Uji larut	Tidak terjadi pencampuran antara madu dan air
Uji keruh dan buih	Buih tidak cepat hilang dan madu tercampur keruh
Uji pemanasan	Busa meluber
Uji segienam	Segienam terbentuk jelas, tidak cepat hilang dan beraturan

Gambaran Histopatologi Lambung

Gambaran histopatologi lambung pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pembesaran 100x dan 400x dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Pengamatan histopatologi lambung tikus pada kelompok kontrol positif (K+) tampak gastritis (+2), kelompok perlakuan pertama (P1) tampak gastritis (+1), kelompok perlakuan kedua (P2) tampak nekrosis lambung (+1), kelompok perlakuan ketiga (P3) tampak gastritis(+1) dengan perbesaran 100x



Gambar 2. Pengamatan histopatologi lambung tikus pada kelompok kontrol positif (K+) tampak gastritis (+2), kelompok perlakuan pertama (P1) tampak Gastritis (+1), kelompok perlakuan kedua (P2) tampak nekrosis lambung (+1), kelompok perlakuan ketiga (P3) tampak gastritis (+1) dengan perbesaran 400x

Analisis Univariat terhadap Histologi Organ Lambung dan Data GSH

Analisis secara univariat dilakukan untuk mendapat informasi distribusi proporsi dan rerata dari sampel penelitian. Pada baris kelompok perlakuan, pengujian ini dapat memperlihatkan total tikus yang tersisa pada setiap kelompok. Pada baris variabel skor dapat memberikan informasi dari total kerusakan dalam 3 lapang pandang. Distribusi variabel kategorik penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Penelitian menemukan bahwa diantara seluruh kelompok perlakuan, hanya kelompok kontrol negatif yang mempunyai angka *survival* atau kesintasan sempurna (100%) dimana tidak ada yang mati sampai akhir penelitian, sedangkan kelompok lain mempunyai angka *survival* yang tidak sempurna. Sebagian besar dari sampel penelitian, yaitu 25,9% mempunyai skor kerusakan lambung “0” yang berarti tidak ada kelainan spesifik, di mana sisanya mempunyai kerusakan yang fokal atau difus.

Tabel 2. Proporsi Variabel Kategorik Penelitian Histopatologi Lambung

Variabel	Kategori	Frekuensi
Kelompok Perlakuan	Kontrol negatif	7 (25,9%)
	Kontrol positif	5 (18,5%)
	Perlakuan 1	4 (14,8%)
	Perlakuan 2	6 (22,2%)
	Perlakuan 3	5 (18,5%)
Skor	0	7 (25,9%)
	1	0 (0)
	2	1 (3,7%)
	3	13 (48,1%)
	4	0 (0)
	5	0 (0)
	6	6 (22,2%)
	7	0 (0)
	8	0 (0)
9	0 (0)	
<i>Total</i>		27 (100,0%)

Analisis Bivariat terhadap Histopatologi Organ Lambung

Tabel 3 menunjukkan pengaruh dari kelompok perlakuan terhadap skor kerusakan lambung menggunakan uji Kruskal-Wallis, di mana ditemukan terdapat pengaruh yang signifikan secara statistik dari kelompok perlakuan terhadap skor kerusakan lambung dari nilai *p* dan dari antara hasil pada kolom rank atau mean rank pada kelompok perlakuan dapat menunjukkan pada perlakuan 2 yang memiliki hasil kerusakan yang lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan lain yang dilihat dari semakin kecil mean rank memiliki nilai datanya lebih kecil sehingga sampel yang didalam kelompok itu memiliki skor yang kecil, semakin kecil skor maka semakin minimal kerusakan organ.

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan Terhadap Skor Kerusakan Lambung

Kelompok Perlakuan	N	Skor		Nilai <i>p</i>
		Rank		
Kontrol negatif	7	8,71		0,031
Kontrol positif	5	22,60		
Perlakuan 1	4	15,00		
Perlakuan 2	6	12,92		
Perlakuan 3	5	13,30		
Total	27			

Analisis ini kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk menilai perbedaan skor kerusakan lambung yang signifikan antar kelompok perlakuan sehingga

dapat memperlihatkan dan membandingkan perbedaan kerusakan lambung sebelum dan sesudah diberi perlakuan maupun dengan kelompok tidak diberi perlakuan dari awal atau kondisi sehat yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Analisis Komparatif Skor Kerusakan Lambung Terhadap Setiap Kelompok Perlakuan Dengan Uji Mann-Whitney

Nilai P	Skor				
	KN	KP	P1	P2	P3
KN	1	0,006*	0,071	0,302	0,255
KP	-	1	0,024*	0,039*	0,055
P1	-	-	1	0,598	0,561
P2	-	-	-	1	0,923
P3	-	-	-	-	1

*Perbedaan signifikan

Analisis Univariat Kadar GSH

Untuk mengetahui distribusi dan variansi data rata-rata kadar GSH darah tiap kelompok dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Analisis distribusi normal dilakukan terhadap variabel kadar GSH menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Jika data normal maka bisa dilanjutkan dengan melihat homogenitas data dengan uji homogenitas data.

Dari hasil statistik terhadap data rata-rata kadar GSH tiap kelompok diketahui data berdistribusi normal dengan nilai $p \geq 0,05$ dan variasi homogen dengan nilai $p < 0,05$ sehingga untuk analisis adanya beda yang signifikan antara data rata-rata kelompok perlakuan dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA pada Tabel 5 untuk hasil interpretasi yang lebih akurat.

Tabel 5. Data Selisih Kadar GSH, Uji Anova, Homogenitas Antar Kelompok

Data Rerata Kadar GSH±SD tiap kelompok	Kelompok	Selisih Kadar GSH	Uji Normalitas	Uji Homogenitas	Nilai <i>p</i> Anova
Kelompok H0 0,0227±0,0098	Kelompok HA 0,0390±0,0201	0,0163			
Kelompok H0 0,0227±0,0098	Kelompok H2 0,0195± 0,0134	-0,0032	0,091	0,482	0,277
Kelompok H0 0,0227±0,0098	Kelompok H4 0,0268±0,0099	0,0041			
Kelompok H0 0,0227±0,0098	Kelompok H8 0,0180±0,0071	-0,0047			

Pada Tabel 5 memperlihatkan adanya perubahan kadar GSH antara kelompok tikus dengan luka lambung tanpa intervensi perlakuan (H_0) dengan kelompok tikus dengan luka lambung yang diberikan perlakuan (H_2 , H_4 , H_8) dan antara kelompok tikus sehat (H_A) dengan kelompok tikus dengan luka lambung tanpa intervensi (H_0). Hasil selisih data rata-

rata kadar GSH antar kelompok menunjukkan adanya kenaikan dan penurunan kadar GSH. Penurunan kadar GSH terjadi pada kelompok tikus dengan luka lambung tanpa intervensi (H_0) jika dibandingkan dengan kelompok tikus sehat (kelompok H_A). Penurunan kadar GSH juga terjadi pada kelompok tikus dengan luka lambung yang diberikan perlakuan dengan

madu selama 2 hari (H_2) dan 8 hari (H_8), jika dibandingkan dengan kelompok tikus dengan luka lambung tanpa intervensi (H_0). Kenaikan data rata-rata kadar GSH terjadi pada kelompok tikus dengan luka lambung yang diberikan perlakuan dengan madu selama 4 hari (H_4) jika dibandingkan dengan kelompok tikus dengan luka lambung tanpa intervensi (H_0).

Analisis Bivariat Kadar GSH

Untuk mengetahui ada atau tidak perbedaan data rata-rata kadar GSH pada antar kelompok maka dilakukan uji statistik uji Anova pada Tabel 5. Dari hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan data rata-rata tiap kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil uji kemurnian madu, didapatkan hasil pada uji larut tidak terjadi pencampuran antara madu dan air. Hasil uji keruh dan buih didapat buih tidak cepat hilang dan madu tercampur keruh. Hasil uji pemanasan didapatkan busa meluber. Hasil uji segienam didapatkan segienam terbentuk jelas, tidak cepat hilang dan beraturan. Hal ini menjelaskan bahwa madu yang digunakan adalah madu murni dari Pulau Jawa Timur.

Pada awal penelitian terdapat 35 ekor tikus sebagai sampel, di mana hanya 27 diantaranya yang berhasil menyelesaikan penelitian dan ikut serta dalam analisis data. Hal ini terjadi karena adanya kematian dari delapan sampel penelitian sebelum selesainya waktu penelitian. Terdapat satu parameter utama yang dinilai dan diuji pada penelitian ini, yaitu skor kerusakan lambung. Selain itu, terdapat juga satu parameter tambahan yaitu kadar GSH serum yang diukur pada beberapa waktu yang berbeda. Hanya sekitar satu per empat dari sampel penelitian (25,9%) yang tidak mengalami kerusakan pada lambungnya, termasuk juga kelompok yang tidak mendapatkan aspirin. Untuk kelompok yang tidak mendapat aspirin namun didapatkan hasil terdapat kerusakan pada lambung mungkin dapat terjadi karena faktor luar seperti perebutan makanan antar hewan coba satu kandang yang membuat beberapa hewan coba yang tidak mampu bersaing tidak dapat makan dengan baik.

Tingkat kerusakan lambung diukur dengan menjumlahkan skor kerusakan lambung dalam 3 lapang pandang, sehingga mempunyai rentang nilai dari 0 sampai dengan 9. Sebagian besar subjek penelitian mempunyai skor

kerusakan lambung 3 (48,1%), diikuti dengan skor 6 (22,2%) dan sisanya mempunyai skor 0 (25,9%) dan 2 (3,7%). Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar subjek mengalami kerusakan lambung pada tingkat tertentu, dan hanya sebagian kecil yang tidak mengalami kerusakan. Temuan yang paling banyak ditemukan pada penelitian ini adalah gastritis. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, di mana gastritis merupakan hasil respon utama mukosa lambung terhadap iritasi epitel akibat berbagai stimulus misalnya pada penelitian ini diberikan obat untuk memberi kerusakan pada lambung.¹⁰

Variabel tambahan, yaitu kadar GSH dianalisis secara numerik, dan uji normalitas distribusi data dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang relatif kecil (<50), dan didapatkan bahwa variabel kadar GSH serum terdistribusi normal ($p=0,091$).¹¹

Kelompok kontrol negatif yang tidak mendapat aspirin memiliki kadar GSH yang lebih tinggi dibandingkan kelompok yang sudah diberikan perlakuan aspirin dan madu. Hal ini dapat menjelaskan bahwa kondisi tikus sebelum diberikan madu dan aspirin dalam kondisi sehat. Sedangkan di antara kelompok perlakuan didapatkan nilai kadar GSH tertinggi pada kelompok perlakuan 2 yang diberi madu selama 4 hari. Hal ini dapat membuktikan efektivitas pemberian madu sebagai gastroprotektif yang paling baik adalah selama 4 hari.

Pada Tabel 5 dapat menjelaskan terjadi penurunan kadar GSH pada kelompok yang hanya diberi aspirin (H_0) dibandingkan kelompok yang tidak diberi aspirin dan madu (H_A). Hal ini dapat menjelaskan bahwa aspirin dapat memberikan efek kerusakan pada lambung yang dibuktikan dengan menurunnya kadar GSH akibat meningkatnya radikal bebas dalam lambung tikus. Selain itu, di antara kelompok perlakuan 1 (kelompok H_2), perlakuan 2 (kelompok H_4), dan kelompok perlakuan 3 (kelompok H_8) terhadap kelompok kontrol positif (tikus dengan luka lambung tanpa intervensi perlakuan) didapatkan hasil kelompok perlakuan 2 (tikus dengan luka lambung yang diberikan madu selama 4 hari) memiliki selisih kadar GSH yang positif, membuktikan bahwa pemberian madu 4 hari dapat menurunkan kerusakan pada lambung dibuktikan dengan meningkatnya kadar GSH pada tikus yang awalnya sudah diberikan efek

kerusakan. Pada kelompok perlakuan 1 dan 3 yang dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, terjadi penurunan kadar GSH, hal ini dapat menjelaskan bahwa pemberian madu selama 2 hari dan 8 hari tidak efektif untuk menyembuhkan lambung.

Data yang ditampilkan pada Tabel 3 bertujuan untuk mengidentifikasi adanya pengaruh yang signifikan dari variabel bebas (perlakuan pada sampel penelitian, berskala kategorik nominal) terhadap variabel terikat utama (skor kerusakan lambung, berskala kategorik ordinal). Pengaruh ini dinilai menggunakan analisis komparatif tidak berpasangan >2 kelompok untuk variabel berskala ordinal, yaitu uji Kruskal-Wallis. Uji ini menemukan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan secara statistik dari kelompok perlakuan terhadap skor kerusakan lambung ($p=0,031$), di mana ditemukan bahwa kelompok kontrol negatif mempunyai nilai mean rank yang paling rendah, dan kelompok kontrol positif mempunyai nilai mean rank yang paling tinggi.

Pada Gambar 1 dan 2 ingin memperlihatkan pada kelompok kontrol positif yang hanya diberikan aspirin selama 3 hari memiliki gambaran gastritis dengan skoring +2 yang berarti terdapat perubahan yang berupa kerusakan pada beberapa tempat atau jaringan yang dijelaskan pada gambar terdapat nekrosis dan infiltrasi sel mononuclear pada submukosa serta infiltrasi sel mononuclear mukosa sedangkan pada perlakuan 1 setelah diberi aspirin kemudian madu terjadi perbaikan yang dilihat dari skor yang didapat yaitu gastritis +1 berarti terjadi kerusakan hanya pada satu lapisan saja. Pada perlakuan 2 terdapat perbaikan lebih baik karena hanya terjadi nekrosis pada lapisan tidak sampai terjadi proses gastritis pada 1 lapisan yang ditandai dengan skor +1. Perlakuan 3 terjadi perbaikan namun tidak sebaik kelompok 2.

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian madu dapat mengurangi terjadinya kerusakan lambung akibat induksi aspirin selama tiga hari. Temuan yang serupa juga dilaporkan oleh penelitian yang dilakukan sebelumnya di Arab Saudi, dimana ditemukan bahwa madu mempunyai efek antioksidan, antiinflamasi, dan antiulkus pada mukosa lambung.^{12,13}

Analisis lanjutan terhadap hasil tersebut kemudian dilakukan dengan membandingkan skor kerusakan lambung dari satu per satu

pasangan kombinasi pada setiap kelompok perlakuan, untuk secara lebih jelas mencari pengaruh yang ditemukan pada analisis sebelumnya. Hal ini dicapai dengan menggunakan uji Mann-Whitney pada setiap kemungkinan pasangan kelompok perlakuan.

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada analisis komparatif dengan uji *Mann-Whitney* pada setiap kemungkinan pasangan kelompok perlakuan, ditemukan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p=0,006$), kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,024$), dan kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,039$). Tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan pada pasangan analisis kelompok perlakuan lainnya.

Terdapatnya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif menunjukkan salah satu dasar utama dari penelitian ini berhasil tercapai, yaitu bahwa pemberian aspirin dengan dosis 600 mg/kg BB dapat menyebabkan terjadinya kerusakan pada lambung yang dibuktikan secara histopatologi.

Pengaruh dari aspirin terhadap kerusakan yang terjadi pada lambung sudah banyak dibuktikan oleh berbagai peneliti, bahkan pada tahun 1978 telah dibuktikan oleh para peneliti di Jepang. Penelitian lain yang lebih terkini telah dilakukan di Cina pada tahun 2020, di mana penelitian ini menemukan bahwa aspirin dapat menyebabkan banyak efek samping pada saluran pencernaan mulai dari gejala dispepsia ringan hingga ulkus gaster yang berat yang dapat menyebabkan kematian. Kemudian, menurut Rachmawati *et al.* (2010) pemberian aspirin 600 mg/kgBB tikus terbukti memberikan efek kerusakan pada lambung secara akut dilihat dari hasil histologi dan kadar gsh tikus yang pada penelitian ini memiliki waktu pemberian aspirin yang singkat yaitu 3 hari.¹⁴⁻¹⁶

Adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 dapat menunjukkan bahwa pemberian madu dengan durasi 2 dan 4 hari setelah pemberian aspirin dapat mengurangi kerusakan lambung akibat induksi aspirin. Namun jika dilihat dari hasil tabel mean rank data pengaruh perlakuan terhadap skor kerusakan, didapatkan bahwa dari perlakuan 1 dan 2 ternyata yang paling baik mengalami perbaikan adalah perlakuan 2

namun tidak mengalami peningkatan yang signifikan. Hal ini sesuai dengan temuan sebelumnya pada Tabel 3 tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 3.

Hal ini dapat dikaitkan dengan waktu dilakukannya euthanasia dan pembuatan preparat dari sampel penelitian. Euthanasia dan pembuatan preparat kelompok kontrol positif dilakukan pada hari ke-3, kelompok perlakuan 1 dilakukan pada hari ke-5, kelompok perlakuan 2 dilakukan pada hari ke-7, dan kelompok perlakuan 3 dilakukan pada hari ke-11 bersamaan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini perlu dihubungkan dengan onset dan durasi kerja dari aspirin, serta dengan onset manfaat dari madu dalam mengurangi kerusakan lambung.

Kerusakan lambung akibat aspirin terjadi akibat penghambatan non-reversibel dari enzim COX-1 yang berfungsi untuk menghambat produksi prostaglandin H_2 pada platelet dan mengurangi sekresi dari mukus lambung sehingga mekanisme pertahanan lambung menjadi terhambat. Aspirin memang hanya mempunyai waktu paruh selama 20 menit, namun karena platelet tidak mampu untuk memproduksi kembali enzim COX, maka fungsi enzim COX baru akan kembali normal setelah sekitar 10 hari, yang merupakan usia dari platelet.^{17,18}

Hal ini memungkinkan bahwa pada kelompok perlakuan 3 yang mendapatkan aspirin selama 3 hari dan madu selama 8 hari (total waktu observasi 11 hari) mengalami lebih banyak kerusakan lambung akibat mengalami durasi kerja dari aspirin yang lengkap, yang tidak dialami oleh kelompok perlakuan 1 (waktu observasi 5 hari) dan kelompok perlakuan 2 (waktu observasi 7 hari).^{17,18} Namun, hal ini masih merupakan sebuah kemungkinan yang belum bisa dibuktikan.

Parameter kedua yang dinilai pada penelitian ini adalah kadar glutathion (GSH) serum. Penelitian ini menemukan bahwa terdapat kenaikan kadar GSH pada perlakuan 2 dibandingkan perlakuan 1 dan 3 namun perbedaan tidak signifikan antara GSH serum pada sampel di seluruh kelompok perlakuan ($p=0,277$). Awalnya, penelitian ini mengharapkan bahwa dengan pemberian aspirin dapat menurunkan kadar GSH serum karena adanya peningkatan oksidasi dari radikal bebas dan penurunan dari antioksidan tubuh (GSH) untuk menangkal radikal bebas

tersebut, serta dengan pemberian madu dapat meningkatkan kembali kadar antioksidan tubuh tersebut karena sudah mendapat asupan dari antioksidan yang terdapat dalam madu. Namun tampak tidak ada kecenderungan atau pola signifikan tertentu pada hasil pemeriksaan kadar GSH serum.

Penjelasan mengenai tidak adanya pengaruh dari pemberian madu terhadap peningkatan kadar antioksidan GSH pada plasma darah tikus mungkin bergantung pada onset dan waktu yang dibutuhkan oleh madu untuk meningkatkan kadar GSH serum, serta pada waktu pengambilan sampel. Pada kelompok kontrol negatif, sampel darah untuk pengukuran kadar GSH serum diambil pada hari pertama penelitian, sedangkan kelompok kontrol positif diambil pada hari ketiga penelitian. Kelompok perlakuan 1 diambil pada hari kelima penelitian, kelompok perlakuan 2 diambil pada hari ketujuh penelitian, dan kelompok perlakuan 3 diambil pada hari kesebelas penelitian.

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian madu yang terlama hanyalah delapan hari yaitu pada kelompok perlakuan 3, lebih sedikit dibandingkan pada penelitian sebelumnya yang memberikan madu dengan durasi yang lebih lama. Hal ini dapat dilihat dari penelitian sebelumnya yang dilakukan di Malaysia menggunakan madu lokal menemukan bahwa pemberian madu selama 28 hari dapat meningkatkan kadar glutathion peroksidase secara signifikan.^{19,20}

Penelitian lain yang dilakukan di Amerika Serikat pada manusia yang diberikan suplementasi glutathion oral menemukan bahwa peningkatan dari kadar GSH dimulai pada satu minggu pasca dimulainya suplementasi, dengan peningkatan maksimal terjadi pada dua minggu pasca pemberian. Penelitian lain lagi yang juga dilakukan di Amerika Serikat menemukan hasil yang serupa dengan pemberian preparat GSH oral selama 1, 3, dan 6 bulan dan menemukan peningkatan yang signifikan. Hal ini dapat memberikan gambaran bahwa kadar GSH serum tidak dapat meningkat dengan cepat setelah pemberian preparat antioksidan per oral.^{21,22}

Simpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu dengan dosis 0,5 mL/kg BB selama empat hari pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley)

dapat secara signifikan mengurangi kerusakan lambung akibat induksi aspirin dengan dosis 600 mg/kg BB. Namun, penelitian ini belum berhasil membuktikan adanya pengaruh signifikan dari pemberian madu terhadap perubahan kadar GSH serum .

Daftar Pustaka

- Rosiani N, Bayhakki, Indra R. Hubungan pengetahuan tentang gastritis dengan motivasi untuk mencegah kekambuhan gastritis. *Jurnal Ilmu Keperawatan*. 2020;9(1):10-18.
- Rahmah C. Pengaruh pemberian madu terhadap perbaikan kerusakan mukosa gaster dan penyembuhan luka pada penderita ulkus peptikum. *Scientific Medical Journal*. 2021;3(1):61-67.
- Winarsi H. Antioksidan alami dan radikal bebas. Ed 5. Yogyakarta: Kanisus; 2011.
- Tulandi S. The effect of storage temperature on the quality of honey. *Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*. 2019;10(1):59-71.
- Riyanti H, Simanjutak S, Winarsi H. Aktivitas glutathione peroxidase dan kadar gula darah tikus diabetes yang diberi ekstrak daun kapulaga (*Amomum cardamomum*). *Scripta Biologica*. 2014;1(2):153.
- Dewajanthi AM, Limanto A, Clarita, Fidelia A. Hypoglycemic and antioxidant activities in extracts star anise (*Illicium verum hook.f*) on wistar rat (*Rattus norvegicus*) diabetes. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*. 2020;4(1):34-43.
- Miladiyah I. Therapeutic drug monitoring (TDM) pada penggunaan aspirin sebagai antireumatik. *Jurnal Farmakologi UII*. 2012;4(2):210-26.
- Mustaba R, Winaya I, Ketutberata I. Studi histopatologi lambung pada tikus putih yang diberi madu sebagai pencegah ulkus lambung yang diinduksi aspirin. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 2022;1(4):471-82.
- Sakura YW, Jayawardhita AAG, Kardena IM, Sudimartini LM. Perbandingan gambaran histopatologi lambung tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diberi amoxicillin dikombinasikan dengan asam mefenamat dan deksametason. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2017;6(3):246-53.
- Silitonga HA, Siregar GA, Sembiring RJ, Nainggolan M. The effectiveness of *Sechium edule* Jacq. Swartz extract changes in the histopathology of aspirin-induced rat gastritis model. *Open Access Maced J Med*. 2021;9:1252-7.
- Mishra P, Pandey CM, Singh U, Gupta A, Sahu C, Keshri A. Descriptive statistics and normality tests for statistical data. *Ann Card Anaesth*. 2019;22:67-72.
- Almasaudi SB, El-Shitany NA, Abbas AT, Abdel-Dayem UA, Ali SS, Jaouni SKA, *et.al*. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of Manuka honey against gastric ulcer in rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2016.
- Apugo UI, Obia O. Modulatory effects of honey on gastric acidity and plasma postprandial bicarbonate in wistar rats. *J Drug Deliv Ther*. 2020;10(3):48-50.
- Rachmawati P, Suparyanti E, Isdaryanto I. The effect of meniran (*Phyllanthus niruri*) extract protection on mice gastric histology damage induced by aspirin. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*. 2010;8(2):41-46.
- Urushidani T, Okabe S, Takeuchi K, Takagi K. Strain differences in aspirin-induced gastric ulceration in rats. *Japan J Pharmacol*. 1978;28:569-78.
- Li Z, Wang Z, Shen B, Chen C, Ding X, Song H. Effects of aspirin on the gastrointestinal tract: Pros vs. cons. *Oncol Lett*. 2020;20:2567-78.
- Zhang WT, Wang MR, Hua GD, Li QY, Wang XJ, Lang R, *et al*. Inhibition of aspirin-induced gastrointestinal injury: Systematic review and network meta-analysis. *Front Pharmacol*. 2021.
- Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation*. 2000;101(10):1206-1218.
- Usman AN, Raya I, Yasmin R, Aliyah, Dirpan A, Arsyad A, *et.al*. Ginger honey affects cortisol, estrogen and glutathione levels; preliminary study to target preconceptional women. *Gac Sanit*. 2021;35:S251-3.
- Erejuwa OO, Sulaiman SA, Wahab MS, Sirajudeen KNS, Salleh MS, Gurtu S. Antioxidant protection of Malaysian tualang honey in pancreas of normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Ann Endocrinol*. 2010;71:291-6.
- Sinha R, Sinha I, Calcagnotto A, Trushin N, Haley JS, Schell TD, *et al*. Oral

- supplementation with liposomal glutathione elevates body stores of glutathione and markers of immune function. *Eur J Clin Nutr.* 2018;72(1):105-11.
22. Richie Jr JP, Nichenametla S, Neidig W, Calcagnotto A, Haley JS, Schell TD, *et al.* Randomized controlled trial of oral glutathione supplementation on body stores of glutathione. *Eur J Nutr.* 2015;54:251-63.