

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Obesitas yang diinduksi oleh pakan tinggi lemak telah menjadi isu kesehatan yang mendunia. Obesitas merupakan kondisi medis yang ditandai dengan akumulasi lemak tubuh yang berlebihan, yang dapat berdampak buruk pada kesehatan. Salah satu faktor utama yang berkontribusi terhadap perkembangan obesitas adalah konsumsi pakan tinggi lemak (Hariri dan Thibault, 2010). Konsumsi pakan tinggi lemak (HFD) dalam waktu lama menyebabkan pertumbuhan jaringan adiposa yang tidak normal, berkembangnya obesitas, dan peningkatan infiltrasi makrofag. Hal ini mempengaruhi jumlah makrofag dalam jaringan dan fenotipnya. Makrofag yang teraktivasi mengeluarkan molekul pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan monosit *chemoattractant* protein-1, mengubah keseluruhan sekresi jaringan adiposa dan menyebabkan perkembangan peradangan (Dimitrof *et al.*, 2024). Sejumlah penelitian mendukung konsep bahwa peradangan mungkin berasal dari akumulasi makrofag yang teraktivasi dalam jaringan adiposa dan, khususnya di sekitar adiposit yang membesar pada hewan atau manusia yang mengalami obesitas (Ding *et al.*, 2010).

Usus adalah sumber peradangan potensial yang terkait dengan pola makan atau obesitas yang belum dieksplorasi secara luas. Meskipun usus adalah organ pertama yang terkena nutrisi yang tertelan dan memiliki sistem kekebalan tubuh yang intrinsik, secara mengejutkan hanya sedikit perhatian yang terfokus pada dampak potensial dari pola makan terhadap peradangan usus atau hubungannya dengan penambahan berat badan (Ding *et al.*, 2010). Usus bertanggung jawab atas pencernaan primer, kemudian penyerapan asam lemak dan fungsi biologisnya dipengaruhi secara intensif oleh lemak makanan. Ini termasuk perubahan sistem kekebalan usus, yang disregulasinya berhubungan dengan penyakit radang usus (IBD) (Qiu *et al.*, 2022). IBD merupakan penyakit inflamasi yang menyerang saluran pencernaan. IBD dapat terjadi pada manusia dan hewan. Secara umum penyebab radang usus adalah virus dan bakteri *pathogen* yang menginfeksi saluran pencernaan. Namun, kasus klinis dan percobaan pada hewan menunjukkan bahwa pola makan HFD terlibat dalam penyakit IBD (Prayoga *et al.*, 2016). Mekanisme yang mendasari melibatkan peradangan sistemik dan lokal yang dipicu oleh akumulasi jaringan adiposa dan perubahan mikrobiota usus (Emerenziani *et al.*, 2019).

Terdapat dua jenis pengobatan secara farmakologi yaitu dengan obat sintetik (kimia) atau obat tradisional (herbal). Namun, sering kali obat sintetik yang digunakan menimbulkan efek samping (Sumihran dan Proietto, 2014). Tanaman *mangifera* merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat. Tanaman *mangifera* ini berpotensi karena mengandung senyawa metabolit sekunder (Ningsih *et al.*, 2017). Adapun kandungan dari daun mangga yaitu flavonoid, fenol, tanin, terpenoid dan kuinon. Kandungan daun *mangifera* ini dapat berfungsi sebagai anti inflamasi (Anisa *et al.*, 2019).

Meskipun terdapat penelitian yang menguji hipotesis bahwa ada interaksi antara pola makan HFD yang memicu peradangan, terdapat sedikit data tentang hal tersebut. Sehingga studi mengenai efek ekstrak etanol daun mangga terhadap histopatologi usus halus pada kondisi HFD masih sangat terbatas. Oleh karena itu untuk menentukan

keaslian penelitian berdasarkan pengetahuan peneliti sebagai penulis dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Terhadap Histopatologi Usus Halus Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Pakan Tinggi Lemak” belum pernah dilakukan, tetapi penelitian serupa dilakukan oleh Hasna *et al.* (2022), dengan judul “Histopathology of Rats Intestinal Treated with High-Fat Diet and Neem Leaf Extract”

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka untuk mengetahui pengaruh penggunaan ekstrak daun mangga pada kasus diet tinggi lemak terhadap usus halus maka dilakukan penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. terhadap histopatologi usus halus *Rattus norvegicus* yang diinduksi pakan tinggi lemak.

## **1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian**

### **1.2.1 Tujuan Penelitian**

- a. Untuk melihat gambaran makroskopis usus halus tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi pakan tinggi lemak setelah pemberian ekstrak daun mangga (*Mangifera indica* L.)
- b. Untuk melihat apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun mangga (*Mangifera indica* L.) terhadap histopatologi usus halus tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi pakan tinggi lemak.

### **1.2.2 Manfaat Penelitian**

- a. Manfaat Pengembangan Ilmu  
Manfaat pengembangan ilmu pada penelitian ini adalah untuk mengetahui histopatologi usus halus *Rattus norvegicus* yang diinduksi pakan tinggi lemak setelah pemberian ekstrak daun *Mangifera indica* L.
- b. Manfaat Aplikasi  
Manfaat aplikasi pada penelitian ini agar dapat menjadi rujukan bagi penelitian selanjutnya.

## **1.3 Kajian Pustaka**

### **1.3.1 Hewan Model**

Hewan model merupakan hewan yang dipelihara dengan tujuan untuk dijadikan model percobaan dan mendapat perlakuan tertentu (uji diet, obat atau bedah) untuk keperluan penelitian yang akan diaplikasikan pada manusia (Astuti, 2015). Penggunaan model hewan suatu penyakit yang ideal dapat dimanfaatkan untuk penilaian praklinis dan menemukan obat baru dan agen terapeutik untuk dikembangkan dan diaplikasikan pada manusia. Dibidang kedokteran hewan sering digunakan untuk menghasilkan varian baru yang lebih rentan sakit, cepat berkembang biak dan bisa dimanfaatkan untuk kebutuhan hidup manusia (Handajani, 2021).

Terdapat beberapa jenis hewan coba yang banyak di gunakan pada penelitian dibidang kedokteran untuk mengetahui mekanisme, patogenesis dan pengobatan (Handajani, 2021). Tikus merupakan hewan yang paling sering digunakan sebagai model hewan karena tikus memiliki sifat seperti masa gestasi singkat, masa hidup relatif singkat, jinak dan memiliki latar belakang kesehatan dan genetik yang sudah diketahui. Selain itu, ukuran tikus juga cukup besar untuk dilakukan pembedahan atau transplantasi organ. Genom tikus memiliki kedekatan homologi dengan genom manusia sehingga manipulasi pada genom tikus dapat menghasilkan model hewan yang fenotipnya mirip dengan penyakit pada manusia (Husna *et al.*, 2019).

### 1.3.2 *Rattus norvegicus*

*Rattus norvegicus* merupakan hewan coba yang sering digunakan dalam laboratorium dan dalam penelitian praklinik. Tikus sebagai hewan model telah banyak digunakan karena memiliki kemampuan metabolik yang cepat sehingga baik digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh. (Fitria *et al.*, 2019).



**Gambar 1.** *Rattus norvegicus*

Source: Al-Hajj *et al.* (2016) *Journal of Food and Nutrition Research*. 4(7): 461-470. <https://doi.org/10.12691/jfnr-4-7-8>

Taksonomi *Rattus norvegicus* menurut Suckow *et al.* (2019) adalah antara lain sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vetebrata
Infrakelas	: Eutheria
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> (Berkenhout, 1769)

*Rattus norvegicus* tergolong dalam kumpulan mamalia kecil. Tikus ini memiliki kadar metabolisme yang tinggi, aktif, serta pergerakan yang tinggi. Ukuran *Rattus norvegicus* pejantan biasanya lebih besar dari betina. Memiliki moncong tumpul, telinga dan mata kecil, kotoran berbentuk kapsul dengan ukuran 2 cm, usia hidup 5-12 bulan, bahkan bisa hidup hingga 3 tahun, dewasa dalam usia 2-3 bulan, jumlah anak tiap kelahiran 8-12 ekor. *Rattus norvegicus* memiliki tekstur rambut kasar dan agak panjang, bentuk badannya silindris dan membesar ke belakang. Panjang ekor 160-210 mm, panjang total 310-460 mm, lebar daun telinga 18-24 mm (berambut), panjang telapak kaki belakang 40-47 mm, lebar gigi pengerat 3,5 mm. *Breeding interval Rattus norvegicus* dapat berkembang biak hingga 7 kali per tahun (Dewi, 2010).

### 1.3.3 **Obesitas**

Obesitas adalah peningkatan berat badan individu karena adanya timbunan triasilgliserol pada jaringan lemak yang berlebih mengakibatkan meningkatnya asupan energi daripada penggunaannya. Asupan lemak makanan sering dikaitkan dengan meningkatnya adipositas (Obesitas). Kelebihan jaringan adiposa atau abnormal atau akumulasi lemak tubuh bisa menjadi penyebabnya obesitas (Sigit *et al.*, 2020). Faktor-

faktor yang berkontribusi terhadap obesitas termasuk lingkungan aktivitas fisik, konsumsi makanan, produksi makanan, psikologi individu, dan psikologi sosial (Masood dan Myuri, 2023). Kondisi obesitas menyebabkan ketidakseimbangan dalam pemrosesan dan penyimpanan nutrisi di dalam tubuh, mempengaruhi berbagai jalur metabolisme dan organ. Sitokin pada obesitas mendorong perekrutan sel inflamasi ke jaringan adiposa, yang menyebabkan kerusakan lebih lanjut dan melanggengkan disfungsi, yang mengarah pada pengalihan asam lemak ke jaringan lain (Duwaerts dan Maher, 2019).

#### 1.3.4 *Mangifera indica* L.

Menurut Aji *et al.* (2024), tanaman *mangifera* adalah tanaman buah yang keberadaannya banyak sekali ditemukan di Indonesia. *Mangifera* berasal dari India yang kemudian menyebar ke wilayah Malaysia serta Indonesia. *Mangifera* memiliki beragam variasi pada bentuk, ukuran, dan warna buah. Salah satu varietas unggulan yang banyak diminati dan dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia adalah *Mangifera indica* L. Selain buahnya, bagian lain dari tanaman *mangifera* yang belum banyak digunakan oleh masyarakat adalah daun. Daun juga memiliki kandungan kimia yang dapat dimanfaatkan oleh manusia.



**Gambar 2.** *Mangifera indica* L.

Source: Suharti *et al.* (2022). *Jurnal Kesehatan Terapan*. 9(2): 66-71. <https://doi.org/10.54816/jk.v9i2.520>

Menurut Mehta (2017), taksonomi *Mangifera indica* L. adalah sebagai berikut:

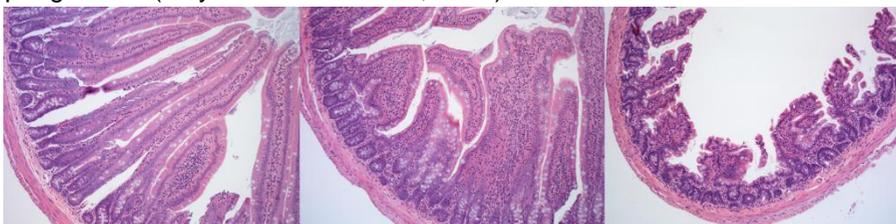
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Famili	: Anacardiaceae
Genus	: <i>Mangifera</i>
Spesies	: <i>Mangifera indica</i> L.

*Mangifera indica* L. merupakan pohon yang sepanjang tahun terus memiliki daun hijau dan dapat tumbuh hingga 10-45 m. Tanaman ini memiliki bentuk seperti kubah dengan dedaunan lebat, dan biasanya memiliki percabangan berat yang berasal dari batang yang kokoh. Daunnya tersusun secara spiral di percabangan dengan panjang helai daun sekitar 25 cm dan lebar 8 cm. terkadang daunnya memiliki warna merah dan lebih tipis ketika masih muda dan mengeluarkan aroma ketika diremas. Tanaman ini memiliki bunga kecil berwarna putih kemerahan atau hijau kekuningan dan tumbuh di ujung percabangan dengan jumlah sekitar 3000. Buah dari tanaman ini sendiri memiliki satu biji yang besar dan memiliki banyak variasi dalam bentuk dan ukuran. Daging

buahnya tebal dan berwarna kuning dan kulitnya berwarna kekuningan ketika matang (Shah *et al.*, 2010).

#### 1.3.4 Usus Halus

Usus halus adalah tempat utama pencernaan dan penyerapan enzimatik. Ini adalah tabung yang panjang dan relatif sempit dan panjangnya bisa mencapai 3,5 kali panjang tubuhnya. Makanan melewati usus kecil dan dicampur dengan cairan pencernaan melalui gerakan peristaltik dan segmentasi ritmis. Ini dibagi menjadi tiga bagian, yang masing-masing memiliki struktur serupa tetapi menunjukkan adaptasi fungsional (Aspinall dan Capello, 2015). Usus halus dimulai dari *sfringter pylorus* ke *cecum* dan dibagi menjadi duodenum, jejunum dan ileum. Pada jejunum dan ileum tidak mudah diidentifikasi pada tikus sehingga saat pengambilan sampel biasanya didasarkan pada pengukuran (Maynard dan Downes, 2019).



**Gambar 3.** Histopatologi usus halus *Rattus norvegicus* normal (duodenum, jejunum dan ileum) (Maynard dan Downes, 2019).

Source: Maynard dan Downes (2019) *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research*.

Histopatologi usus halus normal akan menunjukkan mukosa pada usus tersusun atas serangkaian lipatan yang beberapa memiliki bentuk zig-zag dan ujung berlobus. Mukosa menonjol ke dalam lumen duodenum sebagai vili berbentuk daun. Vili ditemukan diseluruh usus halus. Di antara vili, mukosa akan berlanjut dengan kriptus Lieberkuhn yang merupakan kelenjar mukosa. Vili pada usus halus memiliki lebar sekitar 0,6 mm. Submukosa mengandung pleksus otonom Meissner dan pleksus pembuluh darah dan limfatik. Tunika otot usus halus terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan longitudinal luar dan lapisan sirkular dalam yang dipisahkan oleh pleksus mienterikus Auerbach. Epitel vili dan kriptus lieberkuhn terdiri dari enterosit dan sel goblet (Maynard dan Downes, 2019).

## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Agustus hingga Desember 2024. Penelitian menggunakan hewan coba berupa *Rattus norvegicus* galur wistar berkelamin jantan. Tikus yang digunakan memiliki bobot 200-300 gram yang diperoleh dari Kabupaten Maros. Kemudian akan diaklimasi dan diberikan perlakuan di *Animal Lab* Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Tempat pengambilan sampel serta pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin. Penelitian ini telah mendapatkan Persetujuan Etik dari Komisi Etik Hewan dan Penelitian Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin dengan nomor 002/UN4.1.RSHUH/B/PP36/2025, yang berlaku hingga 23 Januari 2026. Seluruh prosedur penelitian dilakukan sesuai dengan standar kesejahteraan hewan dan peraturan yang telah ditetapkan.

### 2.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini yaitu berupa penelitian eksperimental laboratoris untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak etanol *Mangifera indica* L. terhadap histopatologi usus halus *Rattus norvegicus* yang diinduksi pakan tinggi lemak.

### 2.3 Materi Penelitian

#### 2.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ayakan (ukuran 40 Mesh), batang pengaduk, *blade*, blender, botol minum, *cassette*, *cover glass*, gelas ukur, gunting, *handscoon*, *incubator* (Mammert, Jerman), kandang ukuran 45 cm x 35 cm, kompor *portable* (Phillips, Indonesia), mikroskop olympus CX22 (ICEN, Cina), optilab 22, mikrotom, nampan, *object glass*, pemanas, penggaris, pinset, pipet tetes, sendok, sonde *needle*, *sputi* 3 ml, tabung reaksi, tempat spesimen, timbangan elektrik (Ohaus), *vacuum rotary evaporator* (Rotavapor, Swiss).

#### 2.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 24 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan umur 2-3 bulan dengan berat 200-300 gram, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%), air, alkohol absolut I, alkohol absolut II, anhidrat asetat, asam sulfat, *aquades*, daun mangga arumanis dan mangga golek, etanol 70%, FeCl (III) 1%, *Hematoksilin-Eosin* (HE), HCl, HCl 2N, kloroform, mentega, minyak kelapa, *neutral buffered formalin*, pakan standar, pakan tinggi lemak komersil, *paraffin*, reagen Dragendroff, reagen *Mayor*, serbuk magnesium, telur bebek, *tissue embedding*, *xytol*.

### 2.4 Penelitian

#### 2.4.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Kandang tikus terlebih dahulu disterilkan dengan cara dikeringkan di bawah sinar matahari, kemudian diberi sekam sebagai alas kandang. Setelah kandang steril, tikus langsung ditempatkan dan diberi pakan *pellet* serta minum secara *ad libitum* secukupnya. Kandang juga diberi anyaman kawat sebagai penutup. Selanjutnya tikus diaklimatisasi selama 7 hari.

#### 2.4.2 Pembuatan Pakan Formulasi Diet Tinggi Lemak

Pakan formulasi yang akan diberikan kepada masing-masing kelompok perlakuan dibuat dengan kombinasi beberapa bahan yang mengandung kadar lemak. Bahan yang digunakan untuk membuat pakan formulasi diet tinggi lemak terdiri dari campuran mentega, minyak kelapa, dan telur bebek. Perbandingan ketiga bahan yang mengandung lemak tersebut yaitu 1:1:1 (gram). Mentega dan minyak terlebih dahulu dipanaskan kemudian dicampur dengan kuning telur. Campuran pakan formulasi ini dibuat sebanyak 2% dari total berat badan. Setelah itu, pakan formulasi ini dicampurkan dengan pakan HFD (10 gram/ekor) yang telah diblender dan dibentuk bolus-bolus.

#### 2.4.3 Ekstraksi Daun *Mangifera indica* L.

Menurut Hanifa *et al.* (2022), ekstraksi daun *mangifera* varietas arumanis dan golek dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 200 gram serbuk daun *Mangifera indica* L. direndam dengan 2000 mL etanol, maserasi pertama direndam dengan 1000 mL etanol selama 24 jam sambil diaduk, setelah 24 jam residu dipisahkan dari filtrat, kemudian dilanjutkan proses maserasi dengan pelarut etanol sebanyak 500 mL didiamkan selama 24 jam, selanjutnya maserasi dilakukan kembali dengan sisa etanol 500 mL didiamkan 24 jam. Lalu disaring dan residu dipisahkan dari filtrat. Setelah proses maserasi selesai dilakukan maka ekstrak cair dikentalkan dengan *rotary evaporator* atau *vaccum evaporatorrotary*.

#### 2.4.4 Skrining Fitokimia

##### a. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 10  $\mu$ L ekstrak di dalam mikropipet, ditotolkan pada plat silika gel, fase gerak n-hexane:etil asetat:asam formiat (6:4:0,2), dengan penampak bercak sitroborat. Uji positif jika bercak berwarna kuning-hijau berpendar di bawah sinar UV-366nm setelah penyemprotan penampak bercak (Dewi *et al.*, 2021).

##### b. Identifikasi Senyawa Tanin

Sebanyak 10  $\mu$ L ekstrak di dalam mikropipet, ditotolkan pada plat silika gel, fase gerak metanol:air (6:4) dengan penampak bercak  $FeCl_3$  5%. Uji positif jika bercak berwarna biru di bawah sinar UV-366nm setelah penyemprotan penampak bercak (Dewi *et al.*, 2021).

##### c. Identifikasi Senyawa Steroid

Sebanyak 10  $\mu$ L ekstrak di dalam mikropipet, ditotolkan pada plat silika gel, fase gerak butanol:asam asetat:air (4:1:5) dengan penampak bercak Dragendorf. Uji positif jika bercak berwarna merah coklat di bawah sinar tampak setelah penyemprotan penampak bercak (Dewi *et al.*, 2021).

##### d. Identifikasi Senyawa Saponin

Sejumlah sampel ekstrak daun *mangifera* dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL *aquades* panas, biarkan dingin lalu kocok secara kuat selama 30 detik. Kemudian tetesi asam klorida (HCL) 2N ke dalam tabung dan amati perubahan yang terjadi. Busa yang tidak hilang selama 10 menit setinggi 1-10 cm menunjukkan adanya senyawa saponin (Yuliawati *et al.*, 2022).

#### 2.4.5 Perlakuan Sampel

Penentuan besar sampel yang digunakan dalam satu kelompok serta jumlah pengelompokan yang akan dilakukan dihitung dengan menggunakan rumus *Federer*.

Rumus *Federer*:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

n= jumlah sampel perkelompok

t= jumlah pengelompokan

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 15+3$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Besar sampel pada penelitian ini yaitu 24 ekor tikus wistar yang dibagi dalam 4 kelompok perlakuan, untuk setiap kelompok perlakuan terdapat 6 ekor tikus wistar.

K- : Kelompok kontrol negatif diberikan pakan standar selama 30 hari

K+ : Kelompok kontrol positif yang diberikan pakan diet tinggi lemak dan pakan formulasi selama 30 hari

KP1 : Kelompok yang diberikan pakan diet tinggi lemak komersil dan pakan formulasi kemudian pemberian ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. varietas arumanis dosis 150 mg/kg BB selama 30 hari

KP2 : Kelompok yang diberikan pakan diet tinggi lemak komersil dan pakan formulasi kemudian pemberian ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. varietas golek dosis 150 mg/kg BB selama 30 hari

Mekanisme pemberian ekstrak etanol daun *Mangifera indica* L. dimulai dengan pemberian pakan diet tinggi lemak komersil berupa pakan *pellet* di pagi hari jam 08.00 WITA. Kemudian diikuti dengan pemberian ekstrak etanol daun mangga (*Mangifera indica* L.) pada jam 10.00 WITA secara oral. Pemberian ekstrak diberikan sebanyak 0,9 ml dengan ekstrak etanol daun *mangifera* 44 mg. Selanjutnya pada jam 16.00 WITA tikus kembali diberi pakan diet tinggi lemak komersil dan pakan formulasi. Pemberian perlakuan dilakukan selama 30 hari.

#### 2.4.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung

Tahapan pembuatan preparat histopatologi meliputi fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi, *embedding*, *cutting*, *staining*, *mounting*, dan *skoring*.

1. Preparat histopatologi usus halus dibuat dengan metode parafin dan fiksatif yang digunakan adalah larutan 10% *neutral buffered formalin*. Tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi adalah melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm. Pisau yang digunakan untuk *trimming* adalah pisau *scalpel* No. 22-24. Jumlah potongan jaringan yang dapat dimuat dalam *embedding cassette* berkisar antara 1-5 buah disesuaikan dengan ukuran organ.
2. Dehidrasi jaringan dilakukan setelah *trimming* untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan dengan menggunakan cairan dehidran seperti etanol atau iso propyl alkohol. Etanol yang digunakan yaitu konsentrasi bertingkat mulai 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100%. Cairan dehidran kemudian dibersihkan dari dalam jaringan dengan menggunakan reagen pembersih yaitu xylol. Reagen pembersih ini akan diganti dengan parafin dengan cara dimasukkan dalam larutan parafin cair. Parafin yang digunakan mempunyai titik cair 56-58°C.

3. *Embedding* dilakukan setelah melalui proses dehidrasi, jaringan yang berada di dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan parafin cair dan dilekatkan pada *embedding cassette* yang disebut blok.
4. *Cutting* dilakukan saat jaringan dalam blok yang telah dingin, selanjutnya dipotong pada ketebalan irisan 3  $\mu\text{m}$  dengan *rotary microtome*. Irisan tersebut ditempel pada gelas objek kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar.
5. *Staining*, dilakukan setelah preparat mikroanotomi kering. Pewarnaan dengan metode pewarnaan *Hematoxylin Eosin*.
6. *Mounting*, dilakukan dengan meneteskan entelan secukupnya dan ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan preparat pada setiap perlakuan dilakukan dengan mikroskop cahaya untuk mengamati histopatologis usus halus antar kelompok perlakuan.
7. *Skoring* Histopatologi, preparat histologi diperiksa di bawah mikroskop dengan memperhatikan kondisi hemoragi, inflamasi, dan nekrosis pada preparat organ usus halus. Adapun jenis *skoring* yang digunakan (tabel 1) sebagai berikut:

**Tabel 1.** Skoring preparat histopatologi usus halus

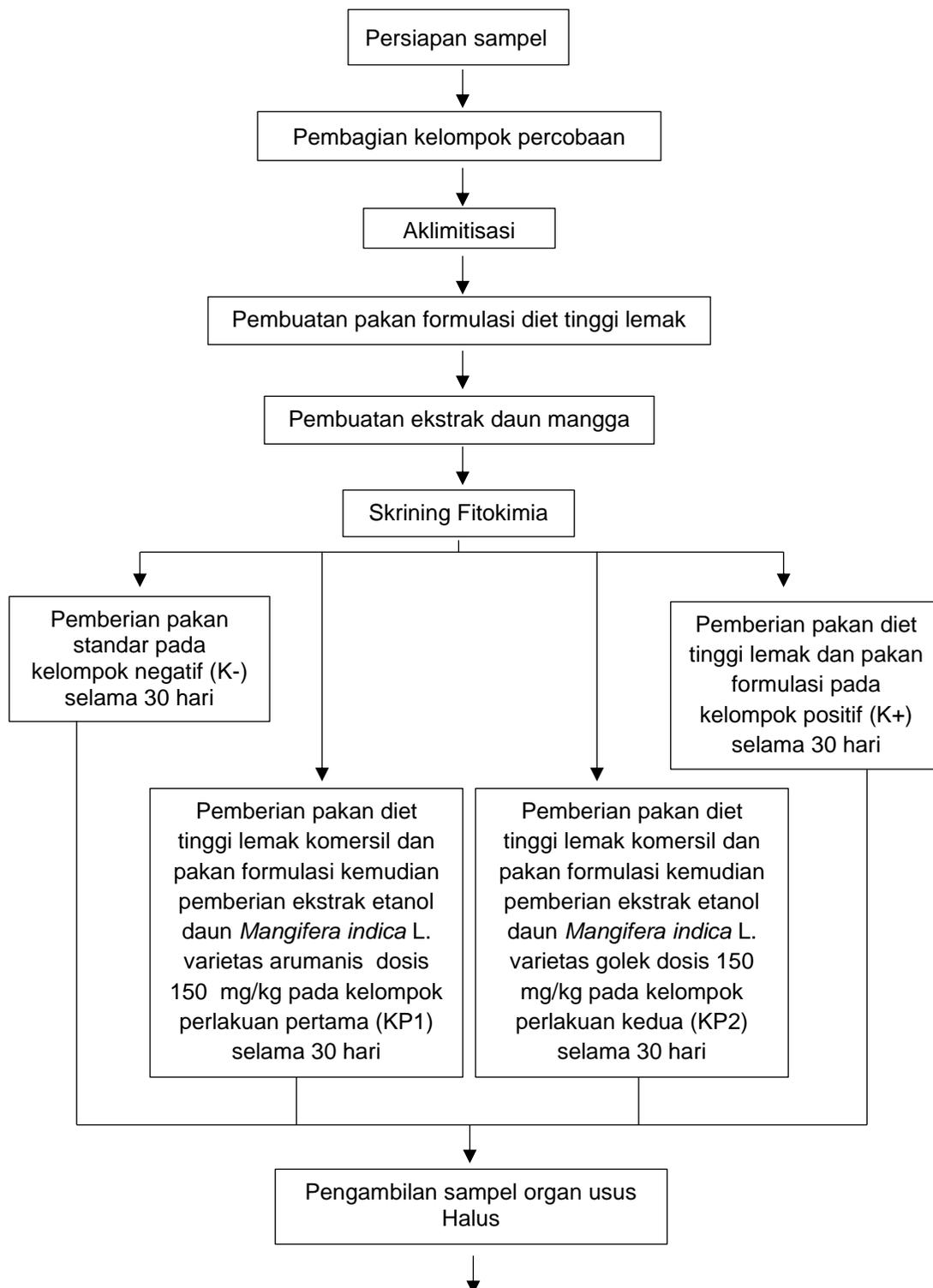
Kerusakan	Skor 0	Skor 1	Skor 2	Skor 3	Skor 4
Hemoragi	Tidak ada perubahan	Hemoragi ringan (<25%)	Hemoragi sedang (26-50%)	Hemorragi berat (51-75%)	Hemoragi sangat berat (76-100%)
Infiltrasi sel radang	Tidak ada perubahan	Infiltrasi sel radang ringan (<25%)	Infiltrasi sel radang sedang (26-50%)	Infiltrasi sel radang berat (51-75%)	Infiltrasi sel radang sangat berat (76-100%)
Nekrosis	Tidak ada perubahan	Jumlah sel nekrotik <25%.	Jumlah sel nekrotik 26-50%	Jumlah sel nekrotik 51-75%	Jumlah sel nekrotik 76-100%

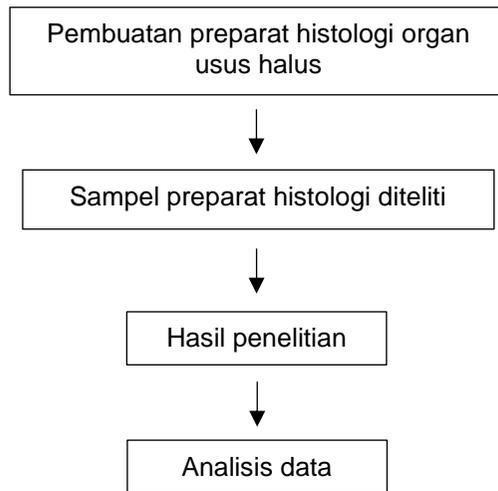
Source: Pidi *et al.*, 2023. *Tesis M. Si. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya*. <https://erepository.uwks.ac.id/16135/>

## 2.5 Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini yaitu secara deskriptif kualitatif yaitu dengan memberikan skor untuk delapan lapang pandang. Hemoragii menunjukkan tingkat perdarahan, sedangkan infiltrasi sel radang mencerminkan respons inflamasi. Nekrosis mengindikasikan kerusakan jaringan yang irreversibel. Skor yang lebih tinggi pada setiap parameter menunjukkan tingkat kerusakan yang semakin parah, mulai dari tidak ada perubahan (skor 0) hingga kerusakan berat (skor 4). Hasil skoring yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan analisis *non-parametrik Kruskal-Wallis* yang didasarkan pada hasil uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas *Lavene*, kemudian di lakukan uji lanjut *Mann-Whitney* dengan menggunakan fasilitas SPSS versi 25 for windows.

## 2.6 Alur Penelitian





**Gambar 3.** Alur Penelitian