

**PERBEDAAN HISTOPATOLOGIS ALVEOLUS ANTARA  
INJEKSI HCL DENGAN CAIRAN LAMBUNG *INTRATRACHEAL*  
PADA MODEL SINDROM ASPIRASI PARU  
TIKUS WISTAR**

**Artikel Karya Tulis Ilmiah**

**Diajukan guna memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh  
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran**

**Disusun oleh:**

**Khilyatul Aulia**

**G2A006088**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG**

**2010**

**THE DIFFERENCE OF ALVEOLUS HISTOPATHOLOGY BETWEEN HCL  
AND GASTRIC FLUIDS INTRATRACHEAL INJECTION IN WISTAR RATS  
MODEL OF PULMONARY ASPIRATION SYNDROME**

*Khilyatul Aulia<sup>1</sup>, Witjaksono<sup>2</sup>*

**Background :** *Aspiration is a risk of anesthetic induction that be happened on intubation periode, post intubation, and post surgery. Even its mortality rate was low, improper management will increase the morbidity rate.*

**Objective :** *The objective of the study is to prove the difference of alveolus histopathology between HCl and gastric fluids intratracheal injection in wistar rats model of pulmonary aspiration syndrome.*

**Methods :** *This research design use post test only control group design on 25 wistar male rats divided into 5 group. K group was control which was given normal saline 0,4ml/KgBW, P1 group given with HCl 0,4ml/KgBW, P2 group was given HCl 1ml/KgBW, P3 group was given gastric fluids 0,4ml/KgBW, and P4 group was given gastric fluids 1ml/KgBW. All the fluid were injected intratracheal. After 15minutes, all rats were anesthetized with ether followed by termination and examination microscopically*

**Result :** *The highes score of what was in P4. The score is evaluated base on degeneration of alveolus wall. The normality test use Saphiro-Wilk then continued with Oneway ANOVA. The Oneway ANOVA showed unsignificance defferences(P=0,138).*

**Conclusion :** *HCl injection with gastric fluids intratracheal in defferences doses for about 15minutes in wistar rats model of pulmonary aspiration syndrome coused changes alveolus histological feature as mild oedema.*

**Keywords :** *Pulmonary aspiration syndrome, Alveolus histological feature*

<sup>1</sup>Student of Medical Faculty Diponegoro University

<sup>2</sup>Lecturer of Departement of Anesthesi, Medical Faculty Diponegoro University

## PERBEDAAN HISTOPATOLOGIS ALVEOLUS ANTARA INJEKSI HCl DENGAN CAIRAN LAMBUNG *INTRATRACHEAL* PADA MODEL SINDROM ASPIRASI PARU TIKUS WISTAR

Khilyatul Aulia<sup>1</sup>, Witjaksono<sup>2</sup>

**Latar Belakang** : Aspirasi merupakan resiko dari tindakan anestesi yang dapat terjadi pada saat intubasi, pasca intubasi, selama anestesi dan pasca bedah. Walaupun angka kematiannya relatif rendah, namun ketidak tepatan penanganan akan menambah morbiditas.

**Tujuan** : Membuktikan adanya perbedaan gambaran histopatologis alveolus antara injeksi HCl dengan cairan lambung *intratracheal* pada model sindrom aspirasi paru tikus wistar.

**Metode** : Penelitian dengan desain the *post test only control group design*. Sampel terdiri dari 25 ekor tikus wistar jantan yang dibagi ke dalam 5 kelompok secara random, yaitu kelompok K merupakan kontrol(normal saline 0,4ml/KgBB) dan kelompok perlakuan diantaranya kelompok P1(HCl 0,4/KgBB), P2(HCl 1ml/KgBB), P3(cairan lambung 0,4ml/KgBB), dan kelompok P4(cairan lambung 1ml/KgBB) yang diinjeksikan secara *intratracheal*. Setelah 15menit tikus kemudian dianestesi dengan ether yang kemudian di lakukan decapitasi untuk kemudian di ambil jaringan paru lewat tehnik pembedahan. Sediaan kemudian dibaca di bawah mikroskop.

**Hasil** : Nilai rerata skor tertinggi ditemukan pada kelompok P4. Skor dinilai berdasarkan kerusakan dinding alveolus yang berupa *mild oedema*. Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan *Saphiro-Wilk* kemudian dilanjutkan uji hipotesa dengan menggunakan statistik parametrik yaitu *Oneway ANOVA* yang menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna pada rerata nilai derajat kerusakan alveolus pada lima kelompok yang diuji ( $p=0,138$ ).

**Kesimpulan** : Pemberian injeksi HCl dengan cairan lambung *intratracheal* pada dosis yang berbeda dengan kontrol selama 15 menit pada model sindrom aspirasi paru tikus wistar menyebabkan terjadinya perubahan struktur histologik alveolus berupa *mild oedema*.

**Kata kunci** : Sindrom Aspirasi paru, Gambaran histologik alveolus

<sup>1</sup> Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

<sup>2</sup> Staf Pengajar Bagian Anestesi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

## PENDAHULUAN

Salah satu penyulit selama tindakan pembedahan dengan pembiusan umum adalah terjadinya aspirasi. Dalam konteks ini yang dimaksud dengan aspirasi adalah masuknya benda asing melalui trakhea ke paru. Benda asing tersebut dapat berasal dari lambung, esophagus, mulut dan hidung, serta dapat berupa makanan, darah, air ludah atau cairan lambung. Masuknya cairan lambung ke saluran napas dapat terjadi akibat muntah atau regurgitasi.<sup>1</sup>

Aspirasi merupakan resiko dari tindakan anestesi yang dapat terjadi pada saat intubasi, pasca intubasi, selama anestesi dan pasca bedah. Walaupun angka kematiannya relatif rendah, namun ketidak tepatan penanganan akan menambah morbiditas.<sup>1</sup>

Timbulnya reaksi akibat aspirasi asam dapat terlihat segera setelah kejadian atau gejala yang timbulnya lambat. Aspirasi asam lambung terjadi 2 fase yaitu trauma pada jaringan dan reaksi inflamasi. Dalam waktu 5 detik, asam akan bereaksi dengan mukosa trakhea dan alveoli, dan dalam waktu 15 detik telah terjadi netralisasi. Enam jam kemudian akan kehilangan lapisan sel superfisial yang bersilia dan yang tidak bersilia. Regenerasi terjadi dalam waktu 3 hari, dan dalam waktu 7 hari terjadi regenerasi yang sempurna pada sel yang mengalami kerusakan. Sel alveolar tipe II sangat peka terhadap HCl dan mengalami kerusakan dalam waktu 4 jam setelah terjadinya aspirasi. Peningkatan yang cepat *lisophosphatidyle choline* dalam 4 jam setelah aspirasi asam mengakibatkan peningkatan permeabilitas alveolar dan cairan paru (*lung water*). Peningkatan cairan paru mengakibatkan penurunan *compliance* paru, meningkatnya *ventilation-perfusion mismatching* dan meningkatnya *alveolar-arterial oxygen tension difference*. Pada fase kedua, ditandai dengan *acid-mediated induction* dan pelepasan *pro-inflammatory cytokine* seperti TNF $\alpha$  dan interleukin-8. Hal ini akan merangsang ekspresi sel adhesi molekul L-selectin dan beta-2 integrins pada neutrofil, and *intercellular adhesion molecules* (ICAM) pada

endotel paru yang selanjutnya merangsang reaksi inflamasi (*neutrophilic inflammatory response*).<sup>2</sup>

Salah satu penelitian tentang pengaruh cairan lambung dan HCl terhadap gambaran histopatologi paru telah dilakukan oleh Tacy. E. Downing, Thomas A. Sporn, R. Randal Bollinger, R. Duane Davis, William Parker and Shu S. Lin pada tahun 2008 dengan judul “*Pulmonary Histopathology in an Experimental Model of Chronic Aspiration is Independent of Acidity*” yang menggunakan variable bebas normal saline 5ml/KgBB, cairan lambung 0,5ml/KgBB pH 2,2, cairan lambung yang dinetralkan, asam klorida, empedu, serta partikel makanan dan dengan variable tergantungnya gambaran histopatologi paru-paru. Belum ada penelitian terhadap gambaran organ spesifik termasuk alveolus.

Aspirasi paru dapat terjadi pada keadaan peningkatan tekanan lambung, meningkatnya kecenderungan terjadinya regurgitasi dan adanya penurunan kompetensi laring. Pencegahan dilakukan dengan mengurangi produksi asam lambung dan keasaman lambung. Produksi asam lambung yang lebih dari 25ml(0,4ml/kg) dan pH kurang dari 2,5 mempunyai resiko yang lebih besar. Apabila pH asam lambung kurang dari 1,5, kerusakan yang terjadi pada paru sangat hebat.<sup>2</sup>

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan gambaran histopatologis alveolus tikus wistar antara HCl dengan cairan lambung intratrakheal pada aspirasi paru. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek HCl dan cairan lambung terhadap gambaran histopatologi alveolus, menambah dasar ilmiah tentang aspirasi paru, serta memberikan bahan pertimbangan untuk penelitian lebih lanjut mengenai sindrom aspirasi paru.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Besar sampel berdasarkan ketentuan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor per kelompok. Jumlah sampel yang

dibutuhkan 25 ekor tikus wistar jantan. Sampel dibagi dalam 5 kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus wistar jantan, umur 10-12 minggu, sehat, berat 150-200 gram, tidak terdapat cacat anatomi, selama observasi tujuh hari sebelum perlakuan tidak sakit.

Kelompok kontrol diberi anestesi ether dan di injeksi intratrakheal normal saline 0,9% sebanyak 0,4ml/KgBB, kelompok P1 diberi anestesi ether dan di injeksi intratrakheal HCl 0,4ml/KgBB, kelompok P2 diberi anestesi ether dan di injeksi intratrakheal HCl sebanyak 1ml/KgBB, kelompok P3 diberi anestesi ether dan di injeksi intratrakheal cairan lambung sebanyak 0,4ml/KgBB, dan kelompok P4 diberi anestesi ether dan di injeksi intratrakheal cairan lambung sebanyak 1ml/KgBB. Setelah itu masing-masing diamankan selama 15 menit dan masing-masing tikus wistar dilakukan terminasi dengan cara dislokasi tulang leher untuk selanjutnya dilakukan pengambilan organ paru yg selanjutnya dibuat preparat histology bagian lobus bawah paru kanan. Kemudian amati di bawah mikroskop dalam 5 lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah jumlah alveolus per lapangan pandang yang mempunyai dinding oedema yaitu berupa dinding alveolus yang berlapis dan terdapan infiltrate di dalamnya.

Data yang terkumpul merupakan data primer dari hasil pengamatan mikroskopis. Variable bebas berskala rasio berupa injeksi intratrakheal HCl dan cairan lambung pada kelompok P1, P2, P3, P4. Variable tergantung berskala interval berupa gambaran histopatologis alveolus. Data diolah menggunakan computer dengan program SPSS 13.0. Uji normalitas data menggunakan *Saphiro-Wilk*. Hasil uji normalitas didapatkan distribusi data normal, lalu uji beda dengan menggunakan uji statistic *Oneway ANOVA*.

## **HASIL**

Kerusakan jaringan alveolus diperiksa dgn menghitung jumlah alveolus yang mengalami normal dan oedema ringan dalam 5 lapangan pandang untuk setiap tikus

pada tiap-tiap kelompok dengan cara menghitung jumlah keseluruhannya. Hasil jumlah tersebut adalah wakil dari nilai kerusakan jaringan alveolus tiap tikus.

Rerata jumlah kerusakan jaringan alveolus pada kelompok kontrol (n=5), perlakuan 1 (n=4), perlakuan 2 (n=5), perlakuan 3 (n=5), perlakuan 4 (n=4)

Kelompok	Mean	SD	<i>Oneway ANOVA</i>
Kontrol	44,60	5,98	0,138
Perlakuan 1	54,00	11,40	
Perlakuan 2	57,80	18,75	
Perlakuan 3	49,80	16,98	
Perlakuan 4	63,75	12,26	

Hasil uji *Oneway ANOVA* signifikan jika  $p < 0,05$  (\*)

Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan *Saphiro-Wilk* didapatkan distribusi data yang normal, kemudian dilanjutkan uji hipotesa dengan menggunakan statistik parametrik yaitu *Oneway ANOVA* . Pada uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna pada rerata nilai derajat kerusakan alveolus pada lima kelompok yang diuji ( $p=0,138$ ).

## **PEMBAHASAN**

Penelitian ini dilakukan dengan pemberian injeksi intratrakheal normal saline, cairan lambung, dan HCl selama 15menit dengan beberapa tingkatan dosis antara lain 0,4ml/KgBB, dan 1ml/KgBB. Penelitian dilakukan untuk melihat kerusakan struktur histologik alveolus yang terjadi berupa mild oedema dimana terjadi penebalan dari dinding alveolus dan infiltrat di dalamnya.

Timbulnya reaksi akibat aspirasi asam dapat terlihat segera setelah terjadi gejala yang timbulnya lambat. Aspirasi asam lambung terjadi 2 fase yaitu trauma pada jaringan dan

reaksi inflamasi. Dalam waktu 5 detik, asam akan bereaksi dengan mukosa trakhea dan alveoli, dan dalam waktu 15 detik telah terjadi netralisasi. Enam jam kemudian akan kehilangan lapisan sel superfisial yang bersilia dan yang tidak bersilia. Regenerasi terjadi dalam waktu 3 hari, dan dalam waktu 7 hari terjadi regenerasi yang sempurna pada sel yang mengalami kerusakan. Sel alveolar tipe II sangat peka terhadap HCl dan mengalami kerusakan dalam waktu 4 jam setelah terjadinya aspirasi. Peningkatan yang cepat lisophosphatidyle choline dalam 4 jam setelah aspirasi asam mengakibatkan peningkatan permeabilitas alveolar dan cairan paru (lung water). Peningkatan cairan paru mengakibatkan menurunkan compliance paru, meningkatkan ventilation-perfusion mismatching dan meningkatkan alveolar-arterial oxygen tension difference. Pada fase kedua, ditandai dengan acid-mediated induction dan pelepasan pro-inflammatory cytokine seperti TNF $\alpha$  dan interleukin-8. Hal ini akan merangsang ekspresi sel adhesi molekul L-selectin dan beta-2 integrins pada neutrofil, and intercellular adhesion molecules (ICAM) pada endotel paru yang selanjutnya merangsang reaksi inflamasi (neutrophilic inflammatory response)<sup>2</sup>.

Hasil penelitian ini, yaitu rerata skor kerusakan alveolus dari kelima kelompok perlakuan (  $p=0,138$  ), menunjukkan bahwa terjadi perubahan gambaran histologik alveolus tikus wistar jantan yang tidak bermakna pada kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3 dan perlakuan 4. Hal ini dapat terjadi akibat dari posisi tikus wistar di saat dilakukan penelitian yang tidak memungkinkan cairan lambung dan HCl untuk sampai merusak ke jaringan alveolus karena waktu yg dibutuhkan cairan lambung dan HCL untuk sampai merusak alveolus adalah minimal setelah 4jam dimana terjadi perpindahan eksudat plasma ke dalam ruang interstitium sehingga terjadi pembengkakan dan edema antar kapiler dan alveolus tetapi pada penelitian ini hanya dilakukan selama 15menit.<sup>1</sup>

Derajat kerusakan struktur histologik alveolus yang terberat ditemukan pada kelompok P4. Kelompok P2 memiliki derajat kerusakan yang lebih berat dibandingkan dengan kelompok P1 namun lebih ringan dibandingkan dengan kelompok P4. Sedangkan kelompok P1 memiliki derajat kerusakan yang lebih berat dibandingkan dengan kelompok P3 namun



lebih ringan dibandingkan dengan kelompok P2. Hasil uji beda antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna yaitu pada kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan dengan P1 yang diberi dosis injeksi intratrakheal HCl 0,4ml/KgBB, antara kelompok kontrol dengan P2 yang diberi dosis injeksi intratrakheal HCl 1ml/KgBB, antara kelompok kontrol dengan P3 yang diberi dosis injeksi intratrakheal cairan lambung 0,4ml/KgBB, serta antara kelompok kontrol dengan P4 yang diberi dosis injeksi intratrakheal cairan lambung 1ml/KgBB. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa jika pemberian injeksi intratrakheal cairan lambung dan HCl digunakan sesuai dosis lazim sampai dosis tinggi selama 15 menit tidak akan menunjukkan perubahan struktur histologik alveolus.

Tidak ditemukan perbedaan gambaran histology alveolus antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan atau antar kelompok perlakuan.

## **KESIMPULAN**

Tidak terbukti adanya perbedaan histopatologis alveolus antara injeksi HCl dengan cairan lambung intratrakheal pada dosis yang berbeda dengan kontrol selama 15 menit pada model sindrom aspirasi paru tikus wistar.

## **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbedaan histopatologis alveolus antara injeksi HCl dengan cairan lambung intratrakheal dalam jangka waktu yang lebih lama serta dengan menggunakan dosis yang lebih tinggi.

## **UCAPAN TERIMAKASIH**

Pada kesempatan ini peneliti menyampaikan ucapan terimakasih yang tulus kepada Allah s.w.t yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya kepada kami, dr. Witjaksono, MKes,Sp.An, selaku pembimbing, dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes, Sp.PA, selaku ketua penguji serta konsultan dalam pembacaan preperat, dr. M.Sofyan

Harahap, Sp.An-KNA, selaku reviewer, staf Bagian Histologi, Patologi Anatomi FK UNDIP, rekan tim penelitian, serta semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian karya tulis ilmiah ini.

## **DAFTAR PUSTAKA**

1. Nugraha Arya. Bagaimana Mencegah dan Mengelola Mendelsohn's Syndrome. Available from:

<http://komitekeperawatanrdsoreang.blogspot.com/2009/05/bagaimana-mencegah-dan-mengelola.html>

2. Downing T.E, Sporn T.A, Bollinger R.R, Davis R.D, Parker W, Lin S.S. Pulmonary Histopathology in an Experimental Model of Chronic Aspiration Is Independent of Acidity. *Exp Biol Med* ( serial online ) 2008 Juli 2008 [cited 2009 November 24]; 233: 1202. Available from: <http://www.ebmonline.org/cgi/content/abstract/233/10/1202>
3. Anatomi Fisiologi Saluran Pernafasan. 27 April 2009. Available from: <http://nursingbegin.com/anatomi-fisiologi-saluran-pernafasan/>
4. Rosalina. Anatomi & Fisiologi Sistem Respirasi. 5 Maret 2009. Available from: <http://pojokrsj.blogspot.com/2009/03/anatomy-fisiologi-sistem-respirasi.html>
5. Tadeus, Drg. Histologi Sistem Respirasi. 10 Januari 2009. Available from: <http://histologidrgtadeus.blogspot.com>
6. Lecture Notes Histologi II. Semarang: UNDIP,2004: 54 - 68
7. Sekresi Lambung. 31 Oktober 2009. Available from: <http://princerioz.wordpress.com/2009/10/31/sekresi-lambung/>
8. C. Guyton Arthur. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Alih Bahasa Ken Ariata Pengadi et al. Edisi 7. Jakarta: EGC, 1994: 93-95
9. Sherwood. S. Fisiologi Manusia. Santoso.B.I. Ed 2. Jakarta: EGC, 1996.p.552 - 560

10. Fitrie Alya Amila. Histolog Lambung. Sumatera Utara: USU, 2004. Available from:  
<http://library.usu.ac.id/download/fk/histologi-alya.pdf>
11. World Health Organization. Research Guidelines For Evaluating The Safety And Efficacy Of Herbal Medicine Manila:World Health Organization Regional Office For The Western Pasifi;.1993. p.35
12. Sopiudin M.S. Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan. Ed 4. Jakarta: Salemba Medika, 2009

## **Lampiran 1**

# **METODE BAKU HISTOLOGI PEMBUATAN SEDIAAN PENELITIAN**

**(Tjarta Achmad, 1992)**

A. Cara pembuatan sediaan bahan penelitian

- i. Mengambil jaringan yang dibutuhkan dengan segera mungkin setelah mencit dimatikan (kurang 2 jam) dengan ukuran  $1 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$
- ii. Memasukkan ke dalam larutan fiksasi dengan urutan sebarai berikut:
  - a. Fiksasi dengan larutan Bouin maksimal 6 jam
  - b. Kemudian jaringan dipindahkan ke dalam larutan formalin 10%
  - c. Jaringan diperkecil ukurannya
  - d. Jaringan dimasukkan ke dalam alcohol 70%  $\pm$  24 jam kemudian dilanjutkan dengan alcohol 80-90%.
  - e. Larutan xylol alcohol 1:1 dengan waktu  $\pm$  24 jam
  - f. Larutan xylol 1,2,3 dengan waktu masing-masing 20 menit sehingga jaringan terlihat tembus pandang.
  - g. Xylol paraffin 1:1 selama 20 menit/24 jam dengan dipanaskan dalam oven  $60^\circ\text{C}$ .
  - h. Ending dan bloking: Parafin 1,2,3 selama 20 menit lalu jaringan dicetak blok paraffin, kemudian didinginkan  $\pm$  24 jam sehingga cetakan dapat dibuka.
  - i. Trimming: memotong blok-blok paraffin dengan mikrotom.

## B. Cara Pemotongan Blok

1. Menyiapkan kaca objek bersih
2. Kaca objek diberi albumin di tengahnya
3. Direkatkan
4. Blok yang sudah disiapkan dipotong dengan ketebalan 5 mikro, lalu dimasukkan air panas 60°C. Setelah jaringan mengembang, jaringan diambil menggunakan kaca objek yang sudah diberi albumin
5. Kemudian dikeringkan
6. Paraffin yang ada pada kaca objek atau jaringan dihilangkan dengan dipanaskan dalam oven 60°C atau dalam tungku

## C. Pewarnaan

1. Xylol 1, xylol 2 dan xylol 3 masing-masing 10 menit
2. Rehidrasi dengan alcohol xylol 5 menit
3. Bilas alcohol 30% - 96% masing-masing  $\pm$  30 menit
4. Bilas aquades 1 x  $\pm$ 10 menit
5. Rendam dengan hematoksilin  $\pm$ 10 menit
6. Bilas dengan air mengalir sampai bersih
7. Bilas aquadest lalu acid alcohol ( alcohol + NaCl 0,9 % )
8. Bilas alcohol 50% - 96%
9. Eosin  $\pm$ 2-5 menit

10. Bilas alcohol 96% 2 x
11. Bilas alcohol xylol
12. Keringkan dengan kertas saring, langsung dibersihkan kotoran-kotoran yang ada disekitar jaringan
13. Xylol 1 (5 menit), xylol 2 (5 menit) langsung ditutup kaca penutup
14. Maka jadilah preparat

## **Lampiran 2**

### **PENENTUAN DOSIS INJEKSI HCL DAN CAIRAN LAMBUNG**

Untuk terjadinya aspirasi paru diperlukan pH dibawah 2,5 dan jumlah volume minimal sebanyak 0,4 ml/KgBB.<sup>2</sup>

Dosis 1 untuk tikus wistar (250 – 300 gram)

$$= 250 \text{ gram} \times 0,4 \text{ ml} / \text{KgBB}$$

$$= 250 \text{ gram} \times$$

$$= 0,1 \text{ ml}$$

Dosis 2 untuk tikus adalah 2,5 kali dosis pertama, yaitu 1ml/KgBB

$$= 250 \text{ gram} \times 1 \text{ ml} / \text{KgBB}$$

$$= 250 \text{ gram} \times$$

= 0,25ml

### **Lampiran 3**

## **CARA PENGAMBILAN CAIRAN LAMBUNG**

Tikus wistar yang sengaja digunakan sebagai donor cairan lambung dianestesi dengan menggunakan anestesi inhalasi ether. Tikus dimasukkan dalam suatu kotak, kemudian ditetesi ether hingga tikus tersebut tidak sadar. Setelah tikus tidak sadar, dilakukan gastrostomy dengan cara dilakukan ligasi pada bagian proksimal duodenum kemudian dilakukan pengambilan cairan lambung dengan menggunakan spuit 1ml. Kemudian cairan lambung yang didapat dikumpulkan pada sebuah wadah kecil kemudian simpan pada lemari pendingin yang siap untuk diinjeksi intratracheal pada tikus wistar yang diteliti.



#### **Lampiran 4**

#### **FOTO PREPARAT**

1. Alveolus normal
  
2. Alveolus yang mengalami *mild oedema*

#### **Lampiran 5**

#### **ANALISIS STASIS**

#### **Explore**

**mild oedema**

**Oneway**