



**EFEK ETANOL DAN METANOL PADA MINUMAN KERAS
OPLOSAN TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI
ORGAN HEPAR TIKUS WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

Oleh

**Krisnha Dian Ayuningtyas
NIM 122010101022**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**EFEK ETANOL DAN METANOL PADA MINUMAN KERAS
OPLOSAN TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI
ORGAN HEPAR TIKUS WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Krisnha Dian Ayuningtyas
NIM 122010101022**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT dengan ridho, rahmad, dan hidayah yang diberikan dalam setiap langkah yang saya ambil.
2. Orang tua saya, ayah Drs. H. John Harisantoso, MM dan Ibu Dra. Hj. Tatik Krisnawati, M.Pd yang telah memberikan bimbingan, dukungan, doa, nasehat, semangat, cinta dan kasih sayang yang tak ternilai sepanjang hidup saya.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember

MOTO

Yaitu orang-orang yang beriman dan hati mereka menjadi tentram dengan mengingat Allah. Ingatlah, hanya dengan mengingat Allah-lah hati menjadi tentram.

(terjemahan Surat Al Ra'ad ayat 28)^{*)}

Maha suci Tuhan yang telah menundukkan semua ini bagi kami, padahal kami sebelumnya tidak mampu menguasainya. Dan sesungguhnya kami akan kembali kepada Tuhan kami.

(terjemahan surat Az Zukhruf ayat 13-14)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*.

Jakarta: Pustaka Agung Harapan.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Krisnha Dian Ayuningtyas

NIM : 122010101022

Menyatakan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan terhadap Histopatologi Organ Hepar Tikus Wistar Jantan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Januari 2016

Yang menyatakan,

Krisnha Dian Ayuningtyas

NIM. 122010101022

SKRIPSI

**EFEK ETANOL DAN METANOL PADA MINUMAN KERAS OPLOSAN
TERHADAP PERUBAHAN HISTOPATOLOGI
ORGAN HEPAR TIKUS WISTAR JANTAN**

Oleh:

Krisnha Dian Ayuningtyas

NIM 122010101022

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Rena Normasari, M.Biomed

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Jauhar Firdaus

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan terhadap Perubahan Histopatologi Organ Hepar Tikus Wistar Jantan ” telah diuji dan disahkan pada :

hari/tanggal : Rabu, 20 Januari 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I

Penguji II

dr. Jane Kosasih Sp.PA
NIP 19800520 201412 2 001

dr. Erfan Efendi Sp.An
NIP 19680328 199903 1 001

Penguji III

Penguji IV

dr.Rena Normasari, M. Biomed
NIP 19830512 200812 2 002

dr. Jauhar Firdaus
NIP 19830125 200812 1 001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati M.Kes
NIP 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Pengaruh Etanol dan Metanol pada Minuman Keras Oplosan terhadap Perubahan Histopatologi Organ Hepar Tikus Wistar Jantan; Krisnha Dian Ayuningtyas, 122010101022; 2016; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Minuman keras atau biasa disebut minuman beralkohol menurut Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 74 tahun 2013 adalah minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol yang diproses dari bahan hasil pertanian yang mengandung karbohidrat dengan cara destilasi fermentasi atau fermentasi tanpa destilasi. Adapun beberapa minuman beralkohol yang diperbolehkan beredar tapi tetap dalam pengawasan ketat berupa pengawasan dalam produksi, peredaran, dan penjualan.

Minuman keras di Indonesia memiliki 3 golongan yang dibagi menurut kadar etanol yang dikandungnya. Golongan A memiliki kandungan etanol yang paling rendah yaitu dibawah 5%, golongan B mengandung etanol 5%-20%, dan golongan C mengandung etanol lebih dari 20% hingga 55%. Dari penjelasan ini, minuman beralkohol yang biasa dikonsumsi manusia adalah etil alkohol atau etanol. Namun di beberapa wilayah Indonesia, masyarakat mengkonsumsi minuman beralkohol yang dicampur zat-zat lain. Minuman beralkohol yang dicampur zat-zat lain ini disebut dengan miras oplosan. Menurut BPOM, dalam membuat miras oplosan, paling banyak zat yang digunakan sebagai campuran adalah metanol. Metanol biasanya digunakan sebagai pelarut cat, pembersih dan penghapus cat. Tanpa dicampur apapun, metanol sangat berbahaya bagi kesehatan bahkan dapat menyebabkan kematian.

Menurut WHO, pada tahun 2012 sekitar 3,3 juta orang di dunia meninggal karena minuman keras. Mengonsumsi minuman keras yang berlebihan dapat meningkatkan risiko kerusakan organ. Mengonsumsi miras dalam waktu yang lama dengan kadar alkohol yang besar akan meningkatkan gangguan kardiovaskular,

serangan stroke, penyakit hepar, gangguan pencernaan, meningkatkan resiko kanker payudara, kanker mulut, kanker esofagus, kanker hepar, dan kanker kolon. Berdasarkan data WHO tahun 2011, sebanyak 372.995 orang didunia meninggal akibat sirosis hepatis, 184.679 orang meninggal akibat kanker hepar, 157.058 orang meninggal akibat kanker esofagus, dan 110.544 orang meninggal akibat gangguan serebrovaskular.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek etanol dan metanol yang ada dalam miras oplosan terhadap kerusakan sel pada hepar tikus Wistar jantan pada hari ke 5, 11, dan 17.

Dalam penelitian ini, jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan *post test only control group*. Sampel yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jenis Wistar albino jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan antara 100-200 gram. Jumlah kelompok penelitian ada 4 yaitu kelompok kontrol negatif yang diberi makan dan minum seperti biasa, kelompok kontrol positif yang diberi etanol dan metanol 100% 0,2592 ml/hari, etanol 100% 1,296 ml/hari, aquades 1,4448 ml, kelompok perlakuan 1 yang diberi etanol dan metanol sesuai dosis selama 2 hari sekali selama 5 hari, kelompok perlakuan 2 yang diberi etanol dan metanol sesuai dosis 2 hari sekali selama 11 hari, dan perlakuan 3 diberi etanol dan metanol sesuai dosis 2 hari sekali selama 17 hari.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu pemberian etanol dan metanol pada miras oplosan. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah perubahan histopatologi hepar. Analisis data yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Etanol dan Metanol Pada Minuman Keras Oplosan Terhadap Perubahan Histopatologi Organ Hepar Tikus Wistar Jantan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Rena Normasari, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Utama, dr. Jauhar Firdaus selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, serta perhatiannya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. dr. Jane Kosasih, Sp.PA dan dr. Erfan Efendi, Sp.An selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Ayah Drs. H. John Harisantoso, MM dan Ibu Dra. Hj. Tatik Krisnawati, M.Pd tercinta, atas dukungan moral, doa, semangat, nasehat serta kasih sayang yang tiada terukur sepanjang perjalanan saya;
5. Saudara-saudara saya, TBM Vertex dari angkatan ke-1 sampai angkatan ke-12, Elisa Ratnasari, Rizki Nur, Suci Rizalah, Rediana Murti, Aditha Fitriana, Risky Karimah
6. Kelompok skripsi Oplosan, Shinta Riski, Ardi Perkasa, dan Made Masagung telah memberikan dukungan, doa, senyum, tawa, dan waktu;

7. Teman-teman sejawat angkatan 2012 atas dukungan dan motivasi demi mendapatkan gelar sarjana kedokteran;
8. Teman-teman keluarga besar KKN 27 Tegalwangi, Danastri, Ami, Ima, Ardian Lubis, Rahmad Wibowo, Arjun, Dyah, Himawan, Nur Abidah yang telah memberikan dukungan, doa, canda, dan tawa;
9. Mas Agus selaku analis Lab. Biomed Fakultas Kedokteran Gigi UNEJ dan Bapak Darma selaku analis Lab. Kimia Organik Fakultas MIPA UNEJ, Polres Kabupaten Jember dan UPT Pengujian Sertifikasi Mutu Barang Jember yang telah membantu menyelesaikan penelitian saya;
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 20 Januari 2016

Penulis

Krisnha Dian Ayuningtyas

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. PEMBAHASAN.....	4
2.1 Minuman Keras dan Oplosan	4
2.2 Efek Miras Oplosan Terhadap Kesehatan.....	5
2.3 Etanol.....	7
2.4 Metanol.....	8
2.5 Metabolisme Etanol dan Metanol	9

2.6 Hepar	13
2.6.1 Anatomi Hepar	13
2.6.2 Histologi Hepar	15
2.6.3 Fisiologi Hepar	17
2.7 Reaksi Hepar Terhadap Jejas	19
2.8 Patofisiologi Kerusakan Hepar	21
2.9 Kerangka Konsep	24
2.10 Hipotesis Penelitian	25
BAB 3. METODE PENELITIAN	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.3 Penentuan Populasi dan Sampel	26
3.4 Definisi Operasional	27
3.5 Variabel Penelitian	28
3.6 Data dan Sumber Data	28
3.7 Teknik dan Alat Perolehan	29
3.7.1 Tahap Persiapan Miras Oplosan	29
3.7.2 Tahap Perlakuan Sampel	31
3.7.3 Tahap Pembentukan Preparat	32
3.7.4 Tahap Pengamatan Preparat	34
3.8 Teknik Penyajian dan Analisis Data	36
3.9 Alur Penelitian	37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Pengamatan	38
4.2 Analisis Hasil Penelitian	42

4.3 Pembahasan	43
BAB 5. PENUTUP.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Metabolisme Etanol.....	10
Gambar 2.2 Metabolisme Metanol.....	11
Gambar 2.3 Anatomi Hepar	14
Gambar 2.4 Histologi Hepar	16
Gambar 2.5 Asinus Hepatis.....	17
Gambar 2.6 Histologipatologi Hepar	21
Gambar 2.7 Skema Kerangka Konseptual Penelitian	24
Gambar 3.1 Tahap Perlakuan Sampel.....	31
Gambar 3.2 Alur Penelitian.....	37
Gambar 4.1 Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok Kontrol	39
Gambar 4.2 Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok P1.....	40
Gambar 4.3 Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok P2.....	41
Gambar 4.4 Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok P3.....	42

Daftar Tabel

Tabel 2.1 Konsentrasi alkohol dalam darah dan gejalanya.....	7
Tabel 3.1 Klasifikasi Roenigk.....	35
Tabel 4.1 Rataan Nilai Gambaran Histopatologi Hepar	38
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i>	43
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	43

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Miras atau minuman keras bukan hal asing di Indonesia. Minuman keras ini mengandung alkohol atau etanol yang mengakibatkan penurunan kesadaran bila diminum dalam jumlah tertentu. Sebenarnya miras oplosan merupakan minuman beralkohol tradisional yang biasanya tidak memiliki kadar alkohol yang terlalu tinggi (Mulyadi, 2014). Namun akhir-akhir ini masyarakat awam sering mencampur minuman keras ini dengan menggunakan bahan yang tidak layak dikonsumsi. Pada 25 November 2015, Satpol PP Jember menangkap sembilan pelajar yang sedang pesta miras oplosan di daerah Gebang, Patrang. Dua diantara sembilan pelajar tersebut adalah perempuan. Setelah dilakukan pemeriksaan, ditemukan bahwa minuman keras oplosan yang mereka bawa merupakan campuran dari alkohol 70% yang biasanya digunakan sebagai antiseptik (Minto, 2014). Tidak hanya pelajar SMK, pada tanggal 9 Oktober 2015 lima bocah SD yang rata-rata berusia 12 tahun dilarikan ke RSD. dr. Soebandi setelah keracunan miras oplosan yang mereka buat sendiri (Mulyono, 2015).

Pemerintah telah membuat perundang-undangan terkait dengan miras oplosan dan pengedarannya. Tetapi total pecandu minuman keras di Indonesia mencapai 16.5% (WHO, 2011). Jumlah ini merupakan total pecandu minuman keras anak-anak bawah umur dan dewasa. Menurut WHO (2011) dalam The Global-based Student Health Survey (GSHS) sebanyak 4,3% laki-laki dan 0,8% perempuan yang masih berusia 13-15 tahun sudah mengkonsumsi minuman keras.

Minuman keras dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada manusia yang mengkonsumsinya. Sekitar 3,3 juta orang di dunia meninggal pada tahun 2012 karena minuman keras (WHO, 2014). Mengonsumsi minuman keras yang berlebihan dapat meningkatkan risiko kerusakan organ. Mengonsumsi miras dalam waktu yang lama

dan dengan konsentrasi alkohol yang besar, akan meningkatkan gangguan kardiovaskular, serangan stroke, penyakit hepar, gangguan pencernaan, meningkatkan risiko kanker payudara, kanker mulut, kanker esofagus, kanker hepar dan kanker kolon. Selain itu konsumsi miras juga dapat menyebabkan gangguan kesehatan mental seperti depresi dan kecemasan (CDC, 2014). Berdasarkan data WHO (2011), sebanyak 372.995 orang di dunia meninggal akibat sirosis hepatis, 184.679 orang meninggal akibat kanker hepar, 157.058 orang meninggal akibat kanker esofagus, dan 110.544 orang meninggal akibat gangguan serebrovaskular. Penyakit hepar alkoholik atau biasa disebut *alcoholic liver disease* merupakan penyakit pada hepar yang disebabkan karena kebiasaan minum minuman beralkohol dalam jangka waktu lama dan dalam jumlah tertentu. Penyakit hepar alkoholik terbagi menjadi tiga, yaitu perlemakan hepar (*fatty liver*), hepatitis alkoholik, dan sirosis. Dalam empat tahun terakhir, angka kematian pasien hepatitis alkoholik dengan sirosis mencapai 60%, tetapi hanya 10%-20% penyakit hepar alkoholik yang akan berkembang menjadi hepatitis dan akan terus berkembang menjadi sirosis bila tidak mendapat perawatan (Sorrel *et al*, 2011). Menurut Price dan Wilson (2006:494), persentase pecandu alkohol akan mengalami sirosis alkoholik sekitar 10%-15%.

Beberapa penelitian di Indonesia, misalnya yang dilakukan oleh Hapsari R. (2010) yaitu pemberian metanol 50% memberikan efek nekrosis pada hepar tikus pada hari ke 15 dan juga penelitian yang dilakukan oleh Nabila N. (2011) yaitu pemberian etanol 60% dan metanol 50% memberikan efek yang lebih merusak sel hepar dibandingkan dengan pemberian etanol 50% dan 60% secara terpisah. Pada penelitian ini miras oplosan di Kabupaten Jember memiliki kadar etanol 20% dan kadar metanol 4% belum pernah diteliti apakah efek yang ditimbulkan sama atau tidak. Oleh karena itu, penulis berkeinginan untuk meneliti hal tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah yang diambil adalah bagaimana pengaruh induksi etanol dan metanol pada miras oplosan terhadap histopatologi sel hepar tikus Wistar jantan pada hari ke 5, 11, dan 17 hari?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kerusakan organ hepar yang diinduksi dengan etanol dan metanol pada miras oplosan selama 5, 11, dan 17 hari.

1.4 Manfaat Penelitian

Penulis berharap penelitian ini dapat memberikan manfaat.

Manfaat bagi ilmu pengetahuan :

- a. Memberikan informasi tentang efek mengkonsumsi etanol dan metanol pada miras oplosan terhadap hepar hari ke 5, 11, dan 17.
- b. Memberikan informasi tentang waktu perubahan sel hepar akibat etanol dan metanol miras oplosan pada hari ke 5, 11, atau 17.

Manfaat bagi masyarakat :

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang bahaya yang ditimbulkan oleh etanol dan metanol pada miras oplosan.
- b. Memberikan informasi kepada produsen dan peminum miras oplosan tentang bahaya miras oplosan dan dapat berhenti untuk memproduksi dan berhenti mengkonsumsi miras oplosan.

Manfaat bagi instansi :

- a. Memberikan informasi kepada peneliti lain yang ingin mengembangkan penelitian lain tentang miras oplosan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Keras dan Oplosan

Minuman keras atau yang biasa disebut minuman beralkohol menurut Peraturan Presiden Republik Indonesia No. 74 Tahun 2013 adalah minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol (C_2H_5OH) yang diproses dari bahan hasil pertanian yang mengandung karbohidrat dengan cara fermentasi dan destilasi atau fermentasi tanpa destilasi. Adapun beberapa minuman beralkohol yang diperbolehkan beredar tetapi tetap dalam pengawasan ketat berupa pengawasan dalam produksi, peredaran, dan penjualan.

Peraturan Presiden Republik Indonesia no. 74 Tahun 2003 (2013, 3), dijelaskan beberapa golongan minuman beralkohol, yaitu :

- a. Golongan A : minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol dengan kadar sampai dengan 5%.
- b. Golongan B : minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol dengan kadar lebih dari 5% sampai dengan 20%.
- c. Golongan C : minuman yang mengandung etil alkohol atau etanol dengan kadar lebih dari 20% sampai dengan 55%.

Dari penjelasan di atas, minuman beralkohol yang biasa dikonsumsi manusia adalah etil alkohol atau biasa disebut dengan etanol. Namun, masyarakat di beberapa wilayah di Indonesia banyak mengonsumsi minuman beralkohol yang dicampur atau biasa disebut dengan miras oplosan. Miras opolosan ini semakin meresahkan karena merenggut banyak korban. Berbeda dari miras biasanya yang dijual secara legal, miras oplosan ini mengandung metil alkohol atau metanol. Metanol biasanya dipakai untuk bahan industri sebagai pelarut, pembersih dan penghapus cat. Metanol biasanya dapat ditemukan dalam aseton. Tanpa dicampur apapun, metanol sangat

berbahaya bagi kesehatan bahkan bisa menyebabkan kematian. Apalagi dicampur dengan berbagai bahan lain yang tidak jelas jenis dan kandungannya.

Minuman beralkohol dioplos dimaksudkan untuk mempercepat sensasi euforia. Efek ini dihasilkan oleh kadar alkohol yang terkandung dalam jenis minuman yang merupakan zat psikoaktif. Sebagian orang yang tidak sabar untuk mendapatkan efek ini, memilih untuk mempercepat terjadinya efek euforia dengan menambahkan bahan-bahan lain, seperti karbol, formalin, obat atau losion nyamuk, obat tetes mata, obat sakit kepala dan bahan kimia lainnya. Penambahan air rendaman beberapa binatang yang telah diawetkan dimaksudkan sebagai jamu atau sebagai obat kuat. Penambahan soda, susu, beras kencur juga dilakukan untuk menutupi rasa tidak enak dari miras oplosan tersebut. Di kalangan penikmat minuman beralkohol, beredar asumsi bahwa mengoplos minuman beralkohol dengan minuman atau obat lainnya akan memberikan efek mabuk yang hebat. Selain itu, kalangan masyarakat tertentu dimana konsumsi minuman alkohol oplosan telah menjadi bagian sub kultur masyarakat, terutama segmen menengah ke bawah. Adu kuat mengonsumsi minuman beralkohol oplosan dijadikan sebagai sarana membuktikan eksistensi diri. Siapa yang paling tahan, dia yang dianggap kuat. Akibatnya, korban berjatuh karena keracunan (InfoPOM,2014).

2.2 Efek Miras Oplosan Terhadap Kesehatan

Minuman yang mengandung etanol dan zat kimia lain yang bersifat adiksi merupakan minuman berbahaya bagi kesehatan. Dosis yang berlebihan dan pemakaian yang tidak pada tempatnya membuat efek yang besar terhadap gangguan pada tubuh. Zat toksik yang ada pada miras oplosan dimetabolisme tubuh dan menghasilkan beberapa zat berbahaya bagi tubuh, dalam hal ini terfokus pada etanol dan metanol yang menjadi bahan utama dalam pembuatan miras oplosan.

Alkohol merupakan zat sedatif hipnotik yang bekerja pada saraf pusat bila dikonsumsi secara berlebihan. Sebenarnya alkohol memiliki sifat stimulan apabila

dikonsumsi dalam jumlah kecil. Setelah mengkonsumsi miras, maka miras tersebut akan diserap usus sebanyak 80% dan lambung 20%, kemudian akan mengalami metabolisme di hepar. Biasanya kadar alkohol dalam darah akan memuncak setelah 30-90 menit setelah mengkonsumsi. Efek yang dihasilkan dari mengkonsumsi miras tergantung dengan kadar alkohol dalam darah pasien (lihat Tabel 2.1) (Gunasekara, 2012).

Mengkonsumsi miras dalam jumlah tertentu dan secara kronik dapat menekan imun tubuh yang mengakibatkan mudah terkena infeksi kuman ataupun virus. Tulang penderita juga akan lebih mudah rapuh karena alkohol akan mengganggu penyerapan kalsium dalam tulang. Selain itu, penderita juga akan mengalami peningkatan tekanan darah, kerusakan pada ginjal, perlemakan hepar, impoten, mengurangi kesuburan, malnutrisi karena terjadi gangguan penyerapan pada usus bahkan jika semua gejala diabaikan dan mengkonsumsi miras oplosan tetap dilanjutkan, akan menimbulkan kematian (lihat Tabel 2.1) (Gunasekara, 2012).

Tabel 2.1 Konsentrasi alkohol dalam darah dan gejala yang ditimbulkan

Konsentrasi alkohol dalam darah	Gejala
< 50mg/dL	Beberapa mengalami gangguan koordinasi antara gerakan dan pikiran Banyak bicara Otot yang lemas
50-150 mg/dL	Suasana hati yang labil Ramah, pemalu atau banyak berargumen Gangguan konsentrasi dan cenderung menghakimi
150-250 mg/dL	Bicara tidak jelas Berjalan sempoyongan Nausea Penglihatan kabur Peningkatan <i>heart rate</i> Mengantuk Suasana hati, kepribadian dan perilaku yang berubah menjadi pemarah dan antisosial
300 mg/dL	Tidak merespon rangsangan dan merasa sangat mengantuk Bicara yang membingungkan Hilang ingatan untuk beberapa saat Muntah Nafas yang berat
>400 mg/dL	Nafas lambat, dangkal atau berhenti Koma Meninggal

Sumber : Gunasekara (2012)

2.3 Etanol

Etanol atau $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (etil alkohol) yang masuk golongan alkohol merupakan zat kimia yang mudah terbakar. Titik didih etanol $78,4^\circ\text{C}$. Etanol memiliki sifat tidak berwarna, mudah menguap, dan dapat bercampur dengan air sehingga etanol digunakan sebagai pelarut berbagai senyawa. Dalam dunia medis, etanol sering digunakan sebagai pelarut obat, desinfektan, pengawet dan merupakan antidotum keracunan metanol dan etilen glikol. Dalam dunia industri, etanol digunakan secara luas sebagai pelarut (Sunarya dan Setiabudi, 2015).

Penggunaan etanol dalam jumlah kecil memiliki keuntungan bagi penikmatnya, seperti memberikan rasa hangat. Penggunaan alkohol dalam dosis kecil dan tidak dikonsumsi secara berlebihan, tidak akan memberikan efek yang terlalu bahaya bagi penikmatnya. Tetapi, penggunaan etanol yang berlebihan, akan meningkatkan risiko kerusakan pada tubuh. Etanol memiliki sifat antidepresan yang membuat beberapa orang menyalahgunakan minuman beralkohol ini (Marks *et al*, 2000).

Efek dari etanol pada berbagai jaringan tergantung dari konsentrasi etanol dalam darah. Konsentrasi etanol dalam darah menentukan kecepatan alkohol diserap tubuh, didistribusikan, dimetabolisme, dan dikeluarkan oleh tubuh. Efek kesehatan yang ditimbulkan dari etanol antara lain dapat menyebabkan perasaan senang (euforia), pusing, mengantuk, depresi sistem syaraf pusat (SSP), mual, muntah, nyeri perut, diare, pankreatitis, hepatitis akut, perdarahan pada saluran pencernaan, ataksia, disorientasi, inkoordinasi otot, paralisis otot, depresi pernafasan, gagal nafas, aspirasi paru, edema paru, pneumonitis, asidosis metabolik, ketoasidosis, hipoglikemia, bradikardia, hipotensi, amnesia, penurunan tingkat kesadaran, kejang, pingsan, koma dan jika etanol dikonsumsi dalam dosis tinggi dapat menyebabkan kematian (Zakhari, 2006).

2.4 Metanol

Metanol atau metil alkohol (CH_3OH) merupakan bentuk paling sederhana dari alkohol. Metanol dibuat secara besar-besaran melalui distilasi kayu keras menghasilkan sekitar 225 galon distilat yang mengandung 6% metanol. Berbentuk cairan bening, berbau khas, memiliki titik didid 64,5 °C, jumlah atom karbon satu dan larut sempurna dalam g/100 mL air pada 20 °C. Metanol dalam dunia industri digunakan sebagai bahan baku pembuatan asetaldehid, cairan antibeku, pestisida dan pelarut. Pada kendaraan bermotor, metanol digunakan sebagai bahan bakar mobil formula. Metanol juga terdapat pada buah-buahan, sayuran segar, jus buah, minuman

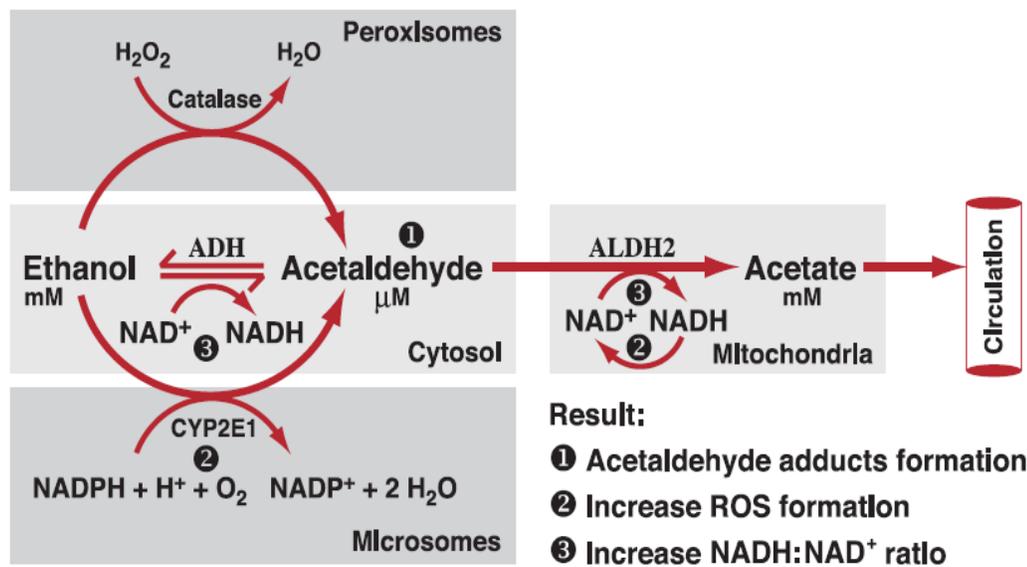
fermentasi, dan *soft drink* yang mengandung aspartam yang merupakan sumber pembentukan metanol dalam tubuh manusia (CDC, 2015).

Metanol cepat diserap baik melalui oral, inhalasi maupun kulit. Metanol juga dimetabolisme oleh ADH (Alkohol Dehidrogenase) dan ALDH (Aldehyde Dehidrogenase) dengan konsekuensi merusak. Beberapa obat dapat menghambat metabolisme metanol dalam tubuh, seperti etanol. Gejala keracunan metanol dapat berupa sakit kepala, gangguan pada saluran cerna, gelisah, sesak nafas, penglihatan kabur hingga kebutaan (Darmono, 2009).

2.5 Metabolisme Etanol dan Metanol

Seperti penjelasan sebelumnya, metanol merupakan bahan berbahaya yang biasanya dijadikan bahan dalam pembuatan miras oplosan. Dilihat dari bahaya terhadap efek kesehatan, metanol jauh lebih berbahaya daripada etanol dan sangat berisiko terhadap kesehatan. Metabolisme etanol dalam tubuh terdiri dari dua macam, yaitu reaksi oksidatif dan reaksi non oksidatif. Pada reaksi oksidatif menggunakan ADH (Asetil Dehidrogenase), sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) dan katalase. Proses pertama setelah etanol masuk dalam tubuh yaitu etanol diabsorpsi di lambung dan usus halus serta terdistribusi dalam cairan tubuh. Di dalam organ hepar, tepatnya di bagian sitosol dari sel hepar, etanol akan dimetabolisme oleh enzim alkohol dehidrogenase atau ADH menjadi asetaldehid yang bersifat toksik, karsinogenik, sangat reaktif, dan menyebabkan kecanduan. Kemudian oleh enzim asetaldehid dehidrogenase atau ALDH, asetaldehid diubah menjadi asam asetat yang melalui siklus Krebs akhirnya menghasilkan karbon dioksida dan air (lihat Gambar 2.1). Sebagian besar asetat yang dihasilkan dari metabolisme etanol ini keluar dari hepar menuju ke darah dan akan diserap oleh jantung, otot skeletal dan otak. Asetat tersebut akan diubah menjadi asetil KoA dan masuk dalam siklus asam trikarboksilat (lihat Gambar 2.1). Etanol bila dikonsumsi dalam jumlah kecil (kurang dari 15% kalori dalam makanan) digunakan secara efisien untuk menghasilkan ATP (Zakhari, 2006).

Etanol juga mengalami oksidasi di mikrosom sel hepar oleh MEOS (*microsomal ethanol oxidizing system*) yang menghasilkan asetaldehid. MEOS merupakan bagian dari superfamili P450 dan MEOS memiliki K_m atau aktivitas enzim yang lebih tinggi daripada ADH. Pembentukan MEOS diinduksi oleh etanol dan substrat lain yang termasuk famili sitokrom 450 (lihat Gambar 2.1). Dengan demikian, pada pasien yang biasa mengkonsumsi etanol dalam dosis tinggi secara kronis, MEOS akan melakukan oksidasi etanol dalam tubuh sekitar 30%. Katalase yang berada pada peroksisom merupakan enzim yang bertugas dalam proses reaksi oksidatif dalam metabolisme etanol pada hepar (lihat Gambar 2.1). Katalase juga akan mengoksidasi etanol untuk menjadi asetaldehid. (Zakhari, 2006).

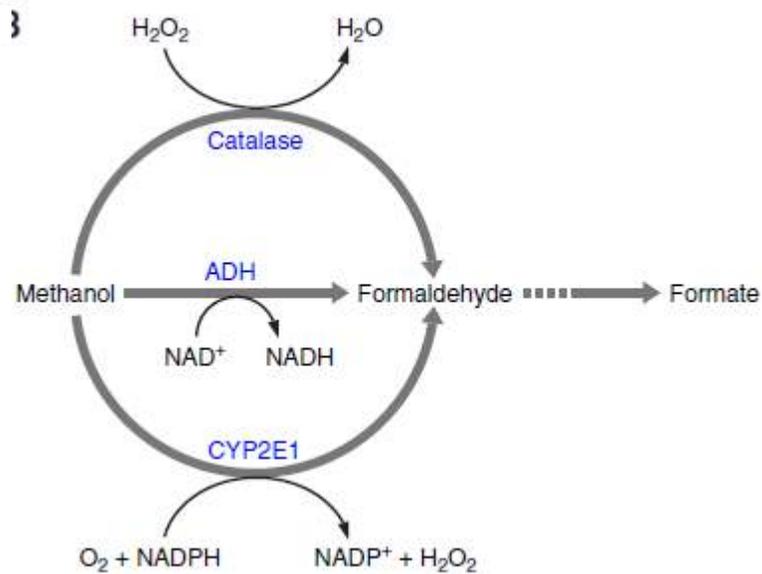


Gambar 2.1 Metabolisme Etanol dalam Sel Hepar (Sumber : Zakhari, 2006)

Reaksi nonoksidatif pada metabolisme alkohol dalam tubuh terjadi sangat sedikit, tetapi produk yang dihasilkan memiliki riwayat dan diagnosis yang merusak jaringan. Metabolisme etanol dengan reaksi nonoksidatif menghasilkan dua formasi yaitu, *fatty acid ethyl esters* (FAEEs) dan molekul lemak yang berisi fosfolipid atau biasa disebut etanol fosfolipid. Reaksi oksidatif dan reaksi non-oksidatif dalam metabolisme etanol dalam tubuh saling berhubungan satu sama lain. Jika ADH,

CYP2E1 dan katalase yang merupakan komponen dalam reaksi oksidatif dihambat, maka akan terjadi peningkatan FAEEs pada hepar dan pankreas yang merupakan hasil dari reaksi nonoksidatif metabolisme etanol (Zakhari, 2006).

Reaksi metanol yang masuk ke dalam tubuh dapat segera terabsorpsi dan terdistribusi ke dalam cairan tubuh. Proses pemecahan metanol dalam tubuh dapat terjadi dengan cara oksidasi metanol menjadi formaldehid kemudian menjadi asam format dan juga dapat langsung diekskresikan melalui urin atau dapat dilanjutkan dengan proses oksidasi yang merubah metanol menjadi karbon dioksida (Dorokhov *et al*, 2015).



Gambar 2.2 Metabolisme metanol (Dorokhov *et al*, 2015)

Secara perlahan metanol dimetabolisme di dalam organ hepar melalui tiga jalur, yaitu sitokrom p450 monooksigenase (CYP), katalase, dan asam dehidrogenase (ADH). Tiga jalur ini memiliki konsentrasi tersendiri dalam memetabolisme metanol. CYP2E1 pada manusia memecah metanol sebanyak 9%, katalase 1%, dan ADH sebanyak 90%. Metanol dan NAD⁺ akan berubah menjadi formaldehid dan NADH

dengan bantuan enzim ADH. Kemudian metanol dan H_2O_2 akan berubah menjadi formaldehid dan H_2O dengan bantuan enzim katalase. Jalur terakhir yaitu metanol, O_2 , dan NADPH akan berubah menjadi formaldehid, $NADP^+$, dan H_2O_2 dengan bantuan CYP2E1 (lihat gambar 2.2) (Dorokhov *et al*, 2015).

Enzim alkohol dehidrogenase membentuk formaldehid yang 33 kali lebih toksik daripada metanol itu sendiri. Kemudian enzim aldehid dehidrogenase memetabolisme formaldehid menjadi asam format. Asam format yang selain dapat menyebabkan asidosis metabolik juga dapat menyebabkan kebutaan permanen. Pada umumnya, gejala keracunan metanol muncul 30 menit hingga 2 jam setelah mengkonsumsi alkohol yang dioplos metanol. Gejala keracunan mula-mula timbul berupa mual, muntah, rasa kantuk, vertigo, mabuk, gastritis, diare, sakit pada punggung dan kaku pada anggota gerak. Setelah melalui periode laten selama 6 hingga 30 jam, penderita dapat mengalami asidosis metabolik berat, gangguan penglihatan, kebutaan, kejang, koma, gagal ginjal akut yang disertai mioglobinuria (terdeteksinya protein serat otot/mioglobin dalam urin), bahkan kematian (Darmono, 2009).

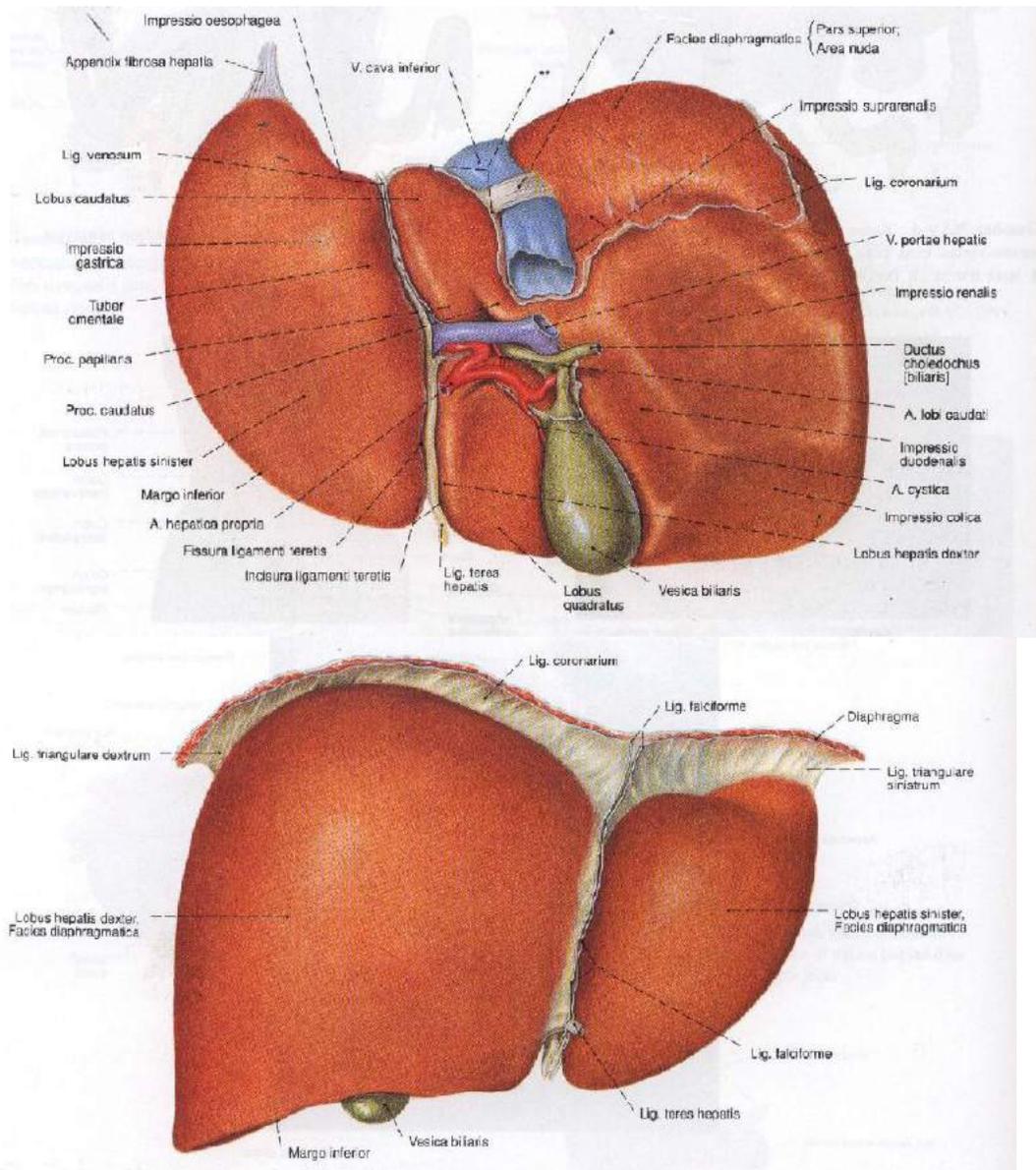
Antidotum dari keracunan metanol adalah etanol. Biasanya etanol akan diberikan segera pada pasien intoksikasi metanol. Pada tubuh, metabolisme etanol akan dilakukan terlebih dahulu karena etanol memiliki gaya gabung terhadap ADH sebanyak 20 kali lebih besar dibanding metanol. Jadi apabila etanol sudah selesai dimetabolisme, maka selanjutnya metanol akan dimetabolisme. Hal ini terbukti ketika orang yang mengkonsumsi miras oplosan yang mengandung metanol, akan merasa mabuk terlebih dahulu dan beberapa jam kemudian pasien akan merasakan gejala keracunan metanol (Darmono, 2009).

2.6 Hepar

2.6.1 Anatomi

Menurut Widjaja (2009:67) hepar merupakan kelenjar paling besar dari tubuh. Pada orang dewasa dapat mencapai 1,5 kg, pada anak-anak relatif berat, dapat mencapai 5% dari berat tubuh. Hepar terletak di bawah diafragma pada regio hipokondrium dekstra, bagian atas dari regio epigastrik, dan dapat mencapai regio hipokondria sinistra. Hepar memiliki konsistensi yang lunak, dibungkus oleh kapsula Glisson yang merupakan jaringan ikat kuat. Hepar memiliki bentuk seperti piramid dengan alasnya di sebelah kanan dan puncaknya di sebelah kiri. Fasies diafragmatika terletak tepat di bawah kubah diafragma dan merupakan satu kesatuan lengkungan dari fasies anterior, superior, lateral dan posterior. Permukaan yang menghadap ke inferior berhubungan visera abdomen. Hepar terbagi dengan adanya ligamentum falsiforme hepatis menjadi lobus kanan yang besar dan lobus kiri yang lebih kecil. Pada permukaan viseralis, dengan adanya fossa sagitalis kanan dan kiri serta porta hepatis, terpisah dari lobus kanan dua lobus kecil, yaitu lobus quadratus di depan dan lobus kaudatus di belakang. Secara fungsional kedua lobus ini termasuk bagian dari lobus kiri, dimana terdapat cabang-cabang arteri hepatica, vena porta dan duktus hepaticus kiri.

Hepar terdiri atas lobuli, ditengahnya terdapat vena sentralis hepatis yang mengalirkan darahnya ke vena hepatica. Porta kanalis yang berisi triad porta berada di celah antar lobuli. Darah arterial dan vena berada di antara sel-sel hepar melalui sinusoid dan selanjutnya mengalir ke vena sentralis (lihat Gambar 2.2).



Gambar atas menunjukkan hepar tampak dorsal dan gambar bawah menunjukkan hepar tampak ventral.

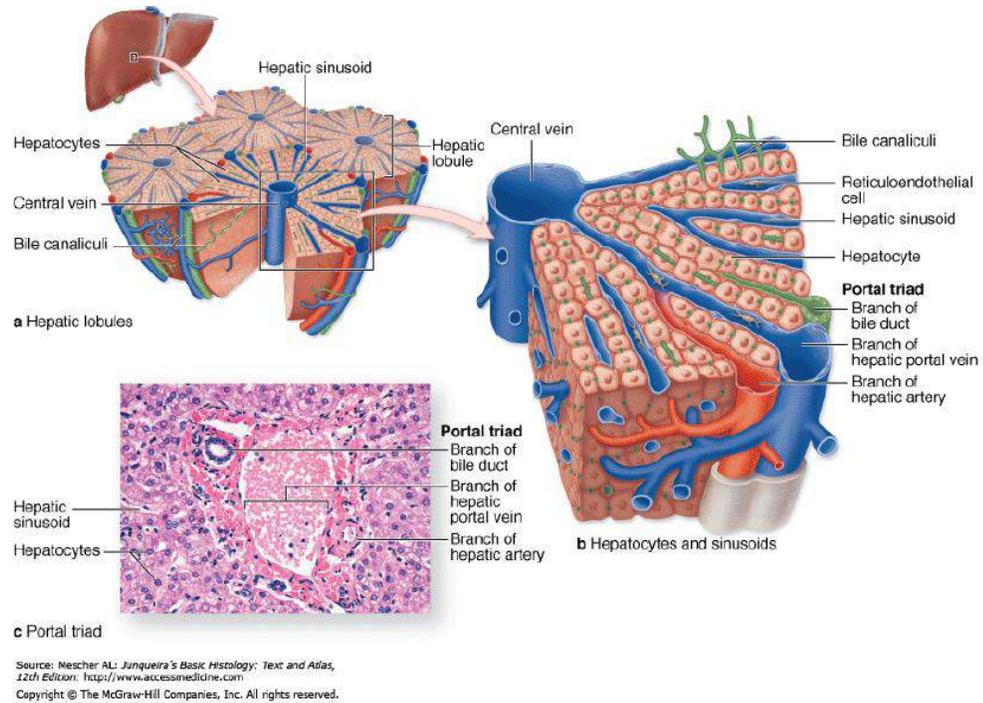
Gambar 2.3 Anatomi Hepar (Paulsen W. Dan Waschke J., 2010)

2.6.2 Histologi Hepar

Hepar merupakan penghubung antara sistem pencernaan dan aliran darah. Organ ini akan bertindak sebagai sistem pencernaan dengan memetabolisme suatu zat sehingga menjadi nutrisi yang diserap tubuh untuk keperluan tubuh lain. Sekitar 70%-80% darah yang ada dalam hepar berasal dari vena porta dan sisanya yaitu sebanyak 20%-30% disuplai dari arteri hepar (Mescher, 2007).

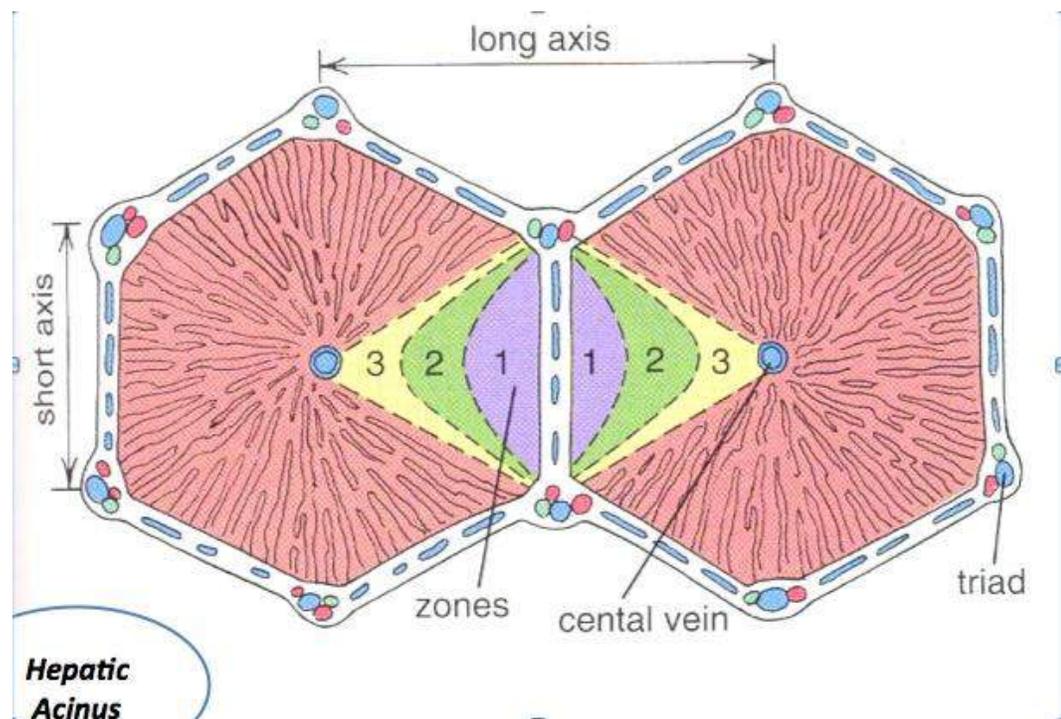
Lobus hepar tersusun oleh unit-unit terkecil yang disebut lobulus (lihat Gambar 2.3). Lobulus ini berbentuk prisma poligonal dan pada potongan lamellar berbentuk heksagonal. Pada bagian tengah lobulus terdapat vena sentralis yang dikelilingi secara radial oleh hepatosit dan sinusoid ke arah perifer. Triad porta yang terdiri dari vena porta, arteri hepatic, dan duktus biliaris tampak pada bagian ujung heksagonal. Setiap lobulus pada manusia, biasanya ditemukan tiga sampai enam daerah porta (lihat Gambar 2.3) (Lumongga, 2008).

Lobulus tersusun atas sel parenkimal dan sel non parenkimal. Bagian terbesar yang menyusun lobulus hepar adalah hepatosit yang merupakan sel parenkimal. Sel non parenkim terdiri dari sel kupfer, sel stellate, dan sel epitelial sistem empedu. Hepatosit yang tersusun di dalam cord dipisahkan oleh sinusoid (lihat Gambar 2.3). Sinusoid hepar merupakan celah diantara barisan hepatosit yang mengandung sinusoid kapiler. Sinusoid hepar mempunyai batas yang tidak sempurna sehingga memudahkan pengalihan zat makromolekul dari lumen ke sel hepar dan sebaliknya. Sinusoid ini dikelilingi dan ditopang oleh selubung serabut retikulin untuk mempertahankan bentuknya. Sinusoid hepar dibatasi oleh celah sempit yang disebut disse. Di dalam disse ditemukan sel stellate yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan vitamin A dan sebagai penghasil matriks ekstraseluler dan kolagen. Dalam sinusoid juga terdapat makrofag yang biasa disebut dengan sel kupffer yang terletak di sisi luminal sel endotel (Lumongga, 2008).



Gambar 2.4 Histologi hepar (Sumber : Mescher, 2007)

Konsep terbaru dan dianggap akurat bahwa aliran darah dan fungsi liver dihasilkan oleh struktur yang disebut asinus hepatic. Asinus hepatis berbentuk kasar yang merupakan unit pada parenkim hepar pada bagian tengah triad porta, terletak diantara dua buah atau lebih vena sentralis. Asinus terbagi dalam zona 1,2, dan 3 dan hepatosit yang terletak pada zona ini mempunyai fungsi metabolik yang berbeda, seperti pada gambar di bawah ini (Lumongga, 2008).



Gambar 2.5 Asinus hepatis (Kirstin, 2014)

Zona 1 paling dekat ke triad porta dan menerima darah yang mengandung oksigen paling banyak yang mengakibatkan zona ini akan mengalami perubahan pertama kali apabila ada perubahan darah yang masuk. Sel dalam zona 2 merupakan sel yang memberikan respon kedua terhadap darah. Zona 3 tempatnya paling jauh dari triad porta dan menerima darah yang sedikit mengandung oksigen, oleh karena itu zona 3 ini paling rentan terhadap perubahan yang diakibatkan oleh perubahan darah yang terjadi (Lumongga, 2008).

2.6.3 Fisiologi Hepar

Organ hepar merupakan organ penting yang ada di tubuh manusia. Hepar berfungsi untuk memetabolisme beberapa zat dan menjadikan zat itu berguna bagi tubuh manusia. Berikut merupakan fungsi fisiologis dari hepar.

1) Fungsi metabolisme karbohidrat

Menurut Guyton dan Hall (2012:904) dalam metabolisme karbohidrat, hepar melakukan fungsi berupa menyimpan glikogen dalam jumlah yang besar, konversi galaktosa dan fruktosa menjadi glukosa, glukoneogenesis serta pembentukan senyawa kimia dari produk antara metabolisme karbohidrat. Penyimpanan glikogen memungkinkan hepar mengambil kelebihan glukosa dari darah, menyimpannya dan kemudian mengembalikannya ke darah bila terjadi penurunan kadar glukosa dalam darah. Glukoneogenesis dalam hati juga penting untuk mempertahankan konsentrasi normal glukosa darah, karena glukoneogenesis hanya terjadi secara bermakna apabila konsentrasi glukosa dalam darah menurun di bawah normal.

2) Metabolisme lemak

Fungsi hepar dalam melakukan metabolisme lemak antara lain oksidasi asam lemak untuk menyuplai energi bagi fungsi tubuh yang lain; sintesis kolesterol, fosfolipid, dan sebagian besar lipoprotein; serta sebagai sintesis lemak dari protein dan karbohidrat. Sekitar 80% kolesterol yang disintesis oleh hepar akan diubah menjadi garam empedu yang kemudian disekresikan kembali ke kantong empedu, sisanya akan diangkut dalam lipoprotein dan dibawa oleh darah ke semua sel jaringan tubuh (Guyton dan Hall, 2012:904-905).

3) Metabolisme protein

Tubuh tidak mampu menggantikan kontribusi hepar pada metabolisme protein lebih dari beberapa hari tanpa terjadi kematian. Fungsi hepar yang paling penting dalam metabolisme protein antara lain deaminasi asam amino, pembentukan ureum untuk mengeluarkan amonia dari cairan tubuh, pembentukan protein plasma, interkonversi beragam asam amino dan sintesis senyawa lain dari asam amino. Deaminasi asam amino dibutuhkan sebelum asam amino dapat digunakan sebagai energi atau diubah menjadi karbohidrat atau lemak. Pembentukan ureum dalam hepar mengeluarkan amonia dari cairan tubuh. Sejumlah besar amonia dibentuk melalui proses deaminasi dan jumlahnya masih ditambah oleh pembentukan bakteri di dalam

usus secara berkelanjutan dan kemudian diabsorpsi ke dalam darah. Oleh karena itu, bila hepar tidak membentuk ureum, konsentrasi amonia plasma meningkat dengan cepat dan menimbulkan koma hepatic dan kematian (Guyton dan Hall, 2012:905).

4) Fungsi metabolik yang lain

Selain berfungsi dalam metabolisme karbohidrat dan protein, hepar juga masih memiliki fungsi yang lain. Fungsi tersebut antara lain sebagai tempat penyimpanan vitamin; tempat penyimpanan besi dalam bentuk ferritin; membentuk zat-zat yang digunakan untuk koagulasi darah dalam jumlah banyak; serta mengeluarkan atau mengekskresikan obat-obatan, hormon dan zat lain (Guyton dan Hall, 2012:905-906).

2.7 Reaksi Hepar Terhadap Jejas

Jejas sel merupakan sel yang mengalami stres fisiologis atau rangsangan patologis. Sel akan mempertahankan homeostasisnya dengan kemampuan adaptifnya, tetapi bila kemampuan adaptif yang berlebihan maka sel akan mengalami jejas. Penyebab terjadinya jejas yaitu, defisiensi oksigen, paparan bahan kimia, agen infeksius, reaksi imunologi, ketidakseimbangan fisik, penuaan, agen fisik, dan defek genetik. Jejas dibagi menjadi dua, yaitu jejas reversibel dan jejas irreversibel. Jejas reversibel merupakan jejas yang terjadi pada sel tetapi masih memungkinkan kembali normal setelah penyebab jejas menghilang. Sedangkan jejas irrevesibel adalah jejas yang terjadi pada sel yang mengakibatkan sel normal berubah secara permanen (Kumar *et al*, 2012).

Hepar rentan terhadap berbagai gangguan metabolik, toksik, mikroba, dan sirkulasi. Apabila sel hepar terkena rangsangan patologik secara terus menerus, akan menyebabkan beberapa respon yang berbeda, sesuai dengan jenis pajanan dan lama pajanan dari rangsangan patologik. Terdapat lima respon umum yang dihasilkan hepar ketika mengalami jejas (Kumar *et al*, 2012).

Respon pertama yaitu peradangan. Peradangan mungkin terbatas di saluran porta atau mungkin terbatas ke dalam parenkim. Jika hepatosit mengalami kerusakan, makrofag akan segera menelan sel yang mati, membentuk gumpalan sel radang di

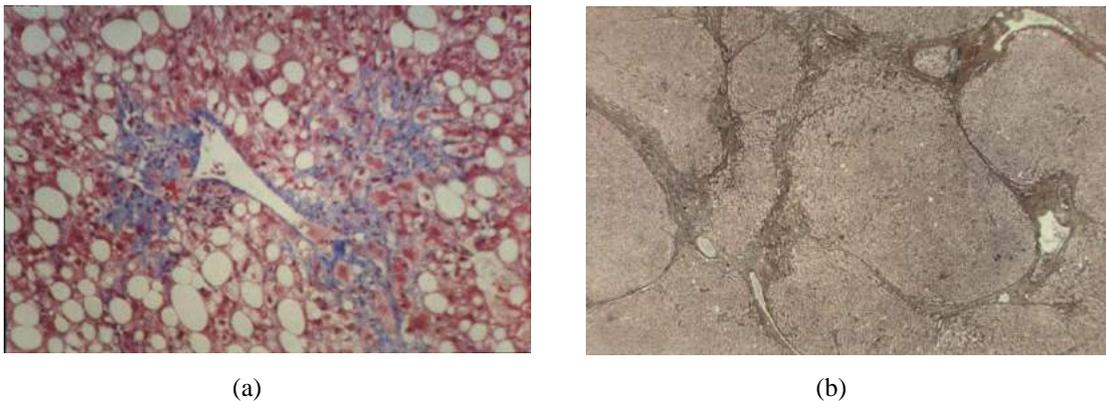
parenkim yang normal. Benda asing, organisme, dan berbagai obat dapat memicu reaksi granulomatosa (Kumar *et al*, 2012).

Respon kedua yaitu degenerasi. Degenerasi merupakan perubahan morfologi dan fungsi yang sifatnya reversibel. Salah satu degenerasi yang terjadi pada organ hepar yaitu degenerasi lemak atau steatosis hepar (gambar 2.5). Steatosis hepatoseluler biasanya muncul pada pasien pecandu alkohol. Pada asupan alkohol yang kronis, lemak tertimbun sampai tahap pembentukan globulus makrovesikular besar yang jernih serta menekan dan menggeser nukleus ke perifer hepatosit. Steatosis hepatoseluler terjadi akibat pengalihan zat normal menjauhi katabolisme dan mengarah ke biosintesis lemak, akibat pembentukan berlebihan nikotinamida adenin dinukleotida tereduksi oleh dua enzim utama dalam metabolisme alkohol, yaitu ADH dan ALDH yang menghasilkan asetat, gangguan pembentukan dan sekresi lipoprotein, dan peningkatan katabolisme lemak perifer. Hingga saat munculnya fibrosis, proses perlemakan dapat pulih sempurna jika asupan alkohol selanjutnya dihentikan (Kumar *et al*, 2012).

Respon ketiga adalah kematian sel. Kematian sel atau nekrosis merupakan kematian sel yang irreversibel. Kematian sel yang bersifat toksik atau diperantarai oleh sistem imun terjadi melalui apoptosis, hepatositnya memiliki ciri piknosis (inti hiperkromatik dan mengecil), karyoteksis (inti pecah) dan karyolisis (inti hilang) (Kumar *et al*, 2012).

Respon keempat adalah fibrosis. Jaringan fibrosa terbentuk sebagai respon terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hepar. Pengendapan kolagen akan menimbulkan dampak permanen pada pola aliran darah hepar. Awalnya, fibrosis terbentuk di dalam atau di sekitar saluran porta atau vena sentralis atau mungkin mengendap langsung dalam sinusoid. Untaian dari fibrosa akan menghubungkan regio hepar yang disebut *bridging fibrosis* (gambar 2.5) (Kumar *et al*, 2012).

Respon terakhir yaitu sirosis. Hepar terbagi menjadi beberapa nodus hepatosit yang sekelilingnya mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut yang disebut sirosis. Sirosis merupakan stadium akhir dari perjalanan penyakit hepar.



(a)Gambaran histopatologi hepar yang memiliki fibrosis dan steatosis.; (b)Gambaran histopatologi hepar yang mengalami sirosis.

Gambar 2.6 Histopatologi hepar (Sumber: www.meddean.luc.edu)

2.8 Patofisiologi Kerusakan Hepar

Metabolisme etanol dalam hepar akan menghasilkan asetaldehid, ROS atau radikal bebas dan peningkatan NAD/NADH. Etanol mengalami oksidasi menjadi asetaldehid oleh ADH (alkohol dehidrogenase). Kemudian asetaldehid akan dioksidasi menjadi asetat dan asetat akan keluar dari hepar untuk diserap oleh otot dan jaringan lain untuk dioksidasi sehingga menghasilkan ATP. Sebagian besar kerusakan pada hepar diakibatkan oleh asetaldehid yang tertimbun dalam hepar dan akan dilepaskan dalam darah ketika pasien telah meminum etanol dalam jumlah besar. Asetaldehid sangat reaktif dan berikatan secara kovalen dengan beberapa gugus amino yang mengakibatkan terbentuknya *adduct* asetaldehid. Akibat dari pembentukan *adduct* asetaldehid ini adalah menurunnya pembentukan protein yang membentuk partikel lipoprotein hepar dan berkurangnya sekresi protein. Penimbunan protein menyebabkan influks air ke dalam hepatosit dan pembengkakan hepar ikut serta menimbulkan hipertensi porta dan kerusakan arsitektur hepar. *Adduct* asetaldehid meningkatkan peroksidasi lemak dan percepatan kerusakan akibat radikal bebas. Asetaldehid berikatan langsung dengan glutathion yang merupakan antioksidan

dan menurunkan kemampuan glutathion melindungi tubuh terhadap H_2O_2 dan meningkatkan pembentukan radikal bebas hidroksil. Induksi MEOS juga meningkatkan pembentukan radikal bebas (Marks *et al*, 2000).

Reaksi metabolisme melalui jalur ADH akan menghasilkan ion hidrogen. Ion hidrogen dari alkohol mereduksi NAD (Nicotinamid Adenin Dinucleotida) sehingga dihasilkan NADH. Akibat dari terbentuknya NADH akan meningkatkan rasio NAD/NADH dalam hepar (Caballeria, 2003). Kadar NADH yang meningkat dalam hepar, mengakibatkan asam lemak dalam hepar yang dimobilisasi dari jaringan adiposa mengalami esterifikasi kembali ke gliserol menjadi triglisreol. Trigliserol kemudian dikemas dalam bentuk VLDL dan disekresikan dalam darah. Pada pecandu alkohol yang lama, sering disertai peningkatan VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Selain itu kemampuan mensekresi trigliserol menurun yang mengakibatkan perlemakan hepar (Marks *et al*, 2000).

Kerusakan organ hepar yang terjadi semakin besar karena kerusakan protein dan lemak sehingga mitokondria tidak mampu mengoksidasi NADH (Marks *et al*, 2000). Selain itu, oksigen yang dihasilkan pada proses oksidasi NADH pada reaksi transpor mitokondrial elektron akan berikatan dengan ion H^+ dan menghasilkan air (H_2O). Dengan demikian untuk mendapatkan oksigen yang cukup, maka hepatosit harus mengambil lebih banyak oksigen dari darah. Metabolisme etanol cenderung meningkatkan ambilan oksigen dari darah oleh hepatosit. Jika hepatosit terletak dekat dengan arteri yang kaya akan darah beroksigen, maka hepatosit tersebut akan mengambil oksigen lebih banyak dari biasanya. Tidak hanya mengambil oksigen dari darah, hepatosit bahkan mengambil oksigen dari bagian hepar yang lain. Hal ini akan menyebabkan hepar mengalami hipoksia (Zakhari, 2006).

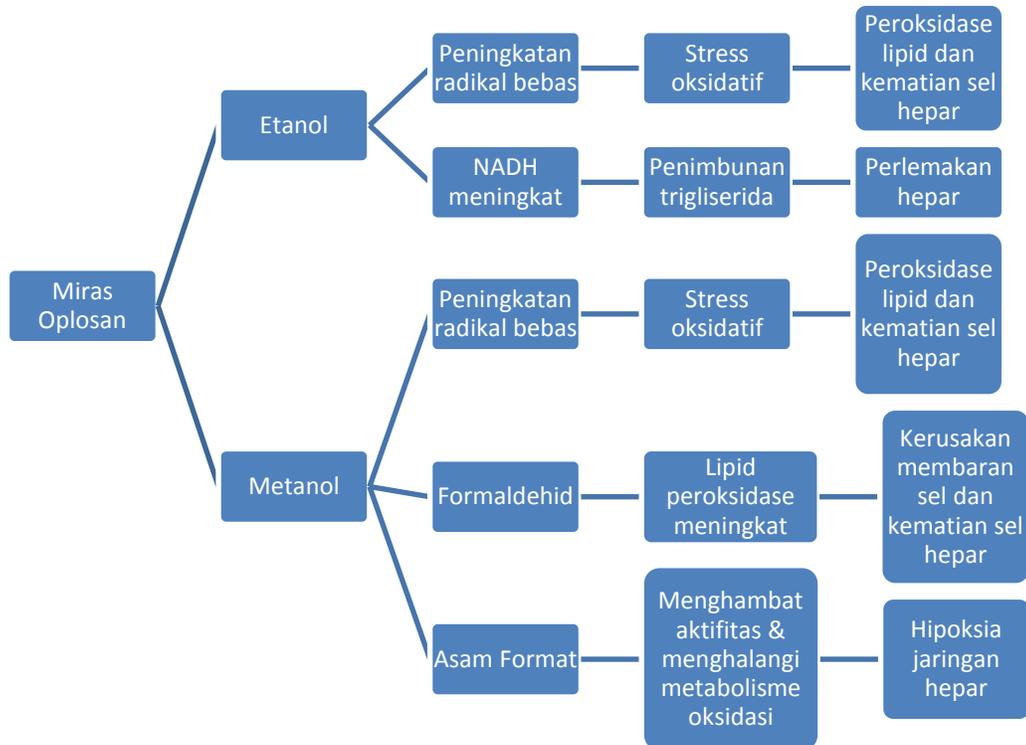
Kerusakan pada sel hepar akibat metanol terjadi karena terbentuknya radikal bebas, formaldehid dan asam format. Radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) dalam tubuh akan menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara antioksidan yang ada dalam tubuh dengan produksi ROS. Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid, protein

termasuk enzim dan DNA. Apabila kerusakan itu terus terjadi dapat mengakibatkan kematian sel hepar. Formaldehid meningkatkan peroksidasi lipid yang dapat mengakibatkan kerusakan sel membran dan kematian sel. Asam format menghambat aktivitas oksidasi mitokondrial sitokrom, menghalangi metabolisme oksidatif dan mengakibatkan hipoksia jaringan (Marks *et al*, 2000).

Penggunaan jangka panjang dengan dosis tertentu dapat mengakibatkan sirosis. Sirosis atau penyakit hepar stadium akhir merupakan fibrosis parenkim hepar yang menimbulkan nodul dan perubahan fungsi hepar sebagai akibat respon penyembuhan luka yang berkepanjangan terhadap jejas akut atau kronis pada hepar yang salah satunya diakibatkan oleh konsumsi alkohol kronik (Tasnif dan Hebert, 2011). Sirosis hepatis merupakan faktor tersering yang mencetuskan ensefalopati hepatic. Hal ini disebabkan adanya akumulasi berbagai toksin dalam peredaran darah yang menyerang otak. Amonia merupakan molekul toksik terhadap sel yang diyakini berperan penting dalam terjadinya ensefalopati hepatic karena kadarnya yang meningkat pada pasien sirosis hepar (Hasan dan Araminta, 2014). Selain terjadi ensefalopati hepatic, kegagalan hepar akibat sirosis hepatis juga mengakibatkan eksresi bilirubin menurun dan menyebabkan hiperbilirubinemia dalam tubuh sehingga menyebabkan ikterus (Price dan Wilson, 2005).

Pada kasus miras oplosan yang meninggal setelah mengkonsumsi miras oplosan kebanyakan diakibatkan karena asidosis metabolik. Metabolisme etanol dan metanol mengakibatkan konsentrasi NADH meningkat yang akan menjadi asam laktat. Asam laktat yang menumpuk akan menyebabkan asidosis metabolik. Hal ini dapat terjadi setelah periode laten 6-30 jam setelah mengkonsumsi miras oplosan (Darmono, 2009).

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Skema kerangka konseptual penelitian

Miras oplosan merupakan campuran dari etanol dan metanol dengan konsentrasi tertentu. Metabolisme etanol dan metanol terjadi di dalam hepar. Metabolisme etanol dalam hepar akan mengakibatkan peningkatan radikal bebas dan peningkatan NADH yang menyebabkan hepar mengalami stres oksidatif dan penimbunan trigliserida.

Metabolisme metanol dalam hepar akan menghasilkan formaldehid yang akan meningkatkan peroksidasi lipid yang berakibat kerusakan membran sel dan kematian sel. Asam format juga merupakan hasil metabolisme metanol yang akan menghambat aktivitas metabolisme oksidasi yang ada di hepar sehingga menyebabkan hipoksia jaringan. Metabolisme metanol mengakibatkan peningkatan radikal bebas yang akan menyebabkan stres oksidatif.

2.10 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini yaitu terjadi perubahan histopatologi hepar tikus Wistar jantan yang diinduksi dengan etanol dan metanol selama 5, 11 dan 17 hari.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian ini menggunakan *true experimental design* secara *in vivo* dengan rancangan *post test only group design* (Kuntjojo, 2009).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di empat tempat, antara lain UPT Pengujian Sertifikasi Mutu Barang Jember untuk mengetahui kadar etanol dan metanol dalam miras oplosan yang didapat dari Polres Jember, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember sebagai lokasi pemeliharaan sampel, RSD. dr. Soebandi untuk membuat preparat dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengamatan histopatologi hepar. Penelitian ini berlangsung pada bulan Oktober dan Desember.

3.3 Penentuan Populasi dan Sampel

Populasi yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah tikus jantan galur *Wistar* dengan berat badan 100-200 gram dan berumur 2-3 bulan, karena tikus dengan kriteria ini dalam keadaan stabil dan cenderung lebih kuat. Jumlah sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer $(n-1)(t-1) \geq 15$ dengan n adalah jumlah pengulangan atau jumlah tikus tiap kelompok perlakuan dan t adalah jumlah perlakuan.

Jumlah perlakuan dalam penelitian ini adalah 4, maka :

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

Sehingga jumlah sampel digunakan minimal adalah enam ekor untuk masing-masing kelompok perlakuan. Sedangkan penelitian ini menggunakan enam ekor tikus ditambah dua ekor tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan. Dua ekor tikus sebagai cadangan digunakan untuk mengantisipasi adanya tikus yang mati sebelum waktu terminasi yang sudah ditentukan.

Kriteria inklusi sampel yaitu tikus Wistar jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 100-200 gr. Kriteria eksklusi yaitu tikus yang sakit sebelum proses randomisasi.

3.4 Definisi Operasional

Definisi operasional yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

- a. Miras oplosan adalah campuran antara aquades, etanol dengan konsentrasi 20% dan metanol dengan konsentrasi 4% sesuai dengan uji kandungan miras oplosan yang didapat dari Polres Jember.
- b. Histopatologi hepar adalah gambaran histopatologi dari hepar dimana dalam penelitian ini menggunakan hepar tikus Wistar jantan. Kerusakan sel hepar dinilai dengan adanya infiltrasi lemak, inflamasi porta, fibrosis dan sirosis. Infiltrasi lemak atau steatosis merupakan respon tercepat dari metabolisme alkohol dalam tubuh. Gambaran steatosis pada hepar berupa butir-butir lemak kecil (mikrovesikular) dan butir-butir lemak besar (makrovesikular) yang jernih serta menekan nukleus hingga ke perifer. Vena porta hepar merupakan zona satu dalam asinus hepatica. Zona satu ini merupakan zona yang pertama kali terpapar oleh darah yang baru masuk dalam hepar, sehingga zona satu akan mengalami

inflamasi terlebih dahulu ketika darah yang masuk dalam hepar mengalami suatu perubahan. Jika pengaruh buruk pada suatu sel terjadi terus menerus dan dalam jangka waktu lama, maka sel itu akan berada pada titik jenuh dimana sel sudah tidak mampu lagi melakukan kompensasi dan metabolisme sehingga sel akan mati atau nekrosis (Price dan Wilson, 2005:44-47). Sel yang mati biasanya memiliki ciri piknosis karyoreksis (inti pecah) dan karyolisis (inti hilang). Respon berikutnya yaitu fibrosis dan yang paling parah yaitu sirosis. Fibrosis terbentuk sebagai respon terhadap peradangan atau gangguan toksik langsung ke hepar. Fibrosis merupakan kolagen yang mengendap dalam hepar yang menimbulkan dampak permanen pada pola aliran darah hepar dan perfusi hepatosit. Dengan berlanjutnya fibrosis dan cedera parenkim, hepar terbagi-bagi menjadi nodus hepatosit yang mengalami regenerasi dan dikelilingi oleh jaringan parut yang disebut sirosis (Kumar *et al*, 2012).

3.5 Variabel Penelitian

Variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian ini antara lain :

- Variabel bebas : waktu pemberian miras oplosan.
 Variabel kontrol : dosis miras oplosan; galur, berat, jenis kelamin, umur tikus; makanan dan minuman sampel
 Variabel terikat : perubahan histopatologi hepar

3.6 Data dan Sumber Data

Sumber data yang diperoleh dari penelitian ini termasuk ke dalam data primer. Data primer merupakan data yang diperoleh langsung dari obyek penelitian. Data berasal dari pengamatan terhadap gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur *Wistar* pasca pemberian miras oplosan selama 5, 11, dan 17 hari yang didekapitasi pada hari ke 6, 12, dan 18.

3.7 Teknik dan Alat Perolehan

3.7.1 Tahap Persiapan Miras Oplosan

Persiapan miras oplosan dimulai dari mengambil miras oplosan yang menjadi barang bukti di Polres Jember. Kemudian dilanjutkan untuk mengidentifikasi kandungan metanol dan etanol dalam miras oplosan menggunakan alat kromatografi gas detektor hantaran panas atau *GC detector* TCD. Identifikasi dilakukan di Laboratorium UPT Pengujian Sertifikasi Mutu Barang Lembaga Tembakau Jember.

Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan yang solutnya mudah menguap bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Pemisahan pada kromatografi gas didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solute dengan fase diam. Selain itu juga penyebaran cuplikan diantara dua fase. Salah satu fase diam yang permukaannya nisbi luas dan fase yang lain yaitu gas yang mengelusi fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solute dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Prinsip utama pemisahan dalam kromatografi gas adalah berdasarkan perbedaan laju migrasi masing-masing komponen dalam melalui kolom. Komponen-komponen yang terelusi dikenali (analisis kualitatif) dari nilai waktu retensinya (Frayekti, 2013).

Gas pembawa dengan tekanan tertentu dialirkan secara konstan melalui kolom yang berisi fase diam. Selanjutnya sampel diinjeksikan ke dalam injektor yang suhunya dapat diatur. Komponen-komponen dalam sampel akan segera menjadi uap dan akan dibawa oleh aliran gas pembawa menuju kolom. Komponen-komponen akan teradopsi oleh fase diam pada kolom kemudian akan merambat dengan kecepatan berbeda sesuai dengan nilai K_d masing-masing komponen sehingga terjadi pemisahan (Frayekti, 2013).

Komponen yang terpisah menuju detektor dan akan terbakar menghasilkan sinyal listrik yang besarnya proporsional dengan komponen tersebut. Sinyal lalu diperkuat oleh amplifier dan selanjutnya oleh perekam dituliskan sebagai

kromatogram berupa puncak. Puncak konsentrasi yang diperoleh menggambarkan arus detektor terhadap waktu (Frayekti, 2013).

Prinsip kerja TCD atau detektor hantaran panas yaitu suatu benda yang panas akan kehilangan panasnya pada suatu kecepatan yang tergantung kepada komposisi gas di sekitarnya. Jadi, kecepatan hilangnya panas itu dapat digunakan sebagai ukuran tentang komposisi gas. Gas pembawa yang mengandung sample akan masuk dalam kolom kemudian sinyal akan muncul pada detektor (Frayekti, 2013).

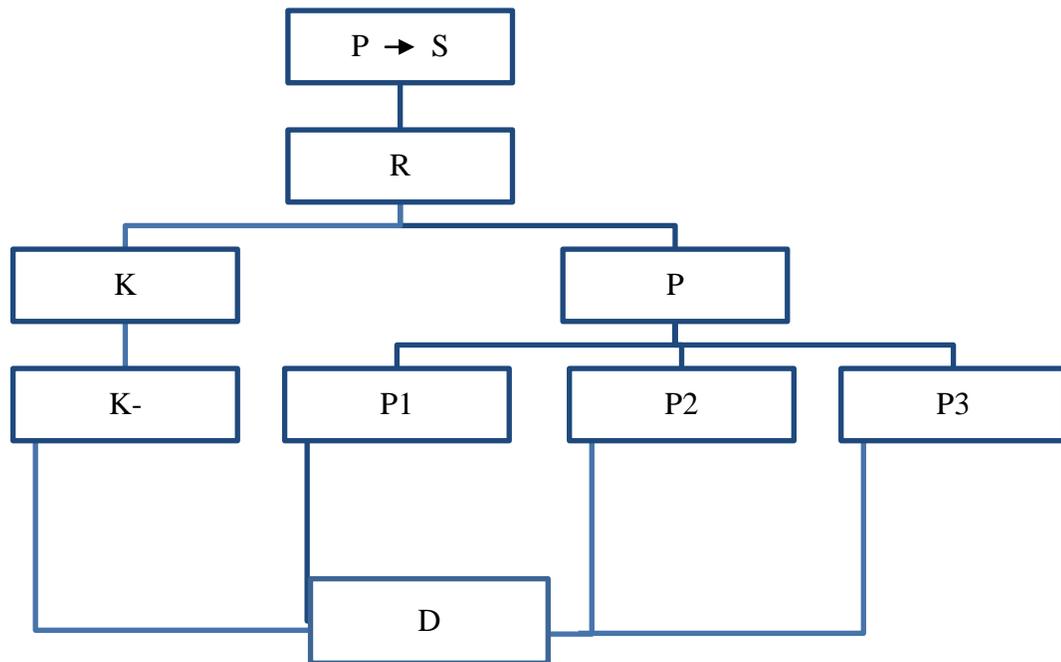
Setelah diketahui kadar etanol dan metanol dalam miras oplosan tersebut, peneliti membuat miras oplosan dengan kandungan yang sama dengan hasil identifikasi. Kandungan yang ada dalam miras oplosan yang diteliti yaitu, Etanol 20% dan metanol 4%. Menurut U.S Departement of Agricultur dan U.S Departemen of Health and Human Service (2010), dalam mengkonsumsi minuman keras, 1 orang dapat menghabiskan 1-2 gelas perhari. Segelas dihitung sebanyak 240 ml. Berikut ini cara perhitungan dosis etanol dan metanol yang akan diberikan ke tikus :

$$20\text{ml}/100\text{ml} = 72\text{ml}/360\text{ml} \text{ dan } 4\text{ml}/100\text{ml} = 14,4\text{ml}/360\text{ml}$$

$$\text{Etanol} = 72 \times 0,018 = 1,296\text{ml}; \text{ metanol} = 14,4 \times 0,018 = 0,2592\text{ml}$$

Perhitungan yang dihasilkan adalah dosis etanol 100% 1,296 ml, dosis metanol 100% 0,2592 ml dan aquades 1,4448 ml. Sehingga dosis maksimum yang diberikan kepada tikus sebanyak 3 ml.

3.7.2 Tahap Perlakuan Sampel



Gambar 3.1 Tahap perlakuan sampel

Keterangan :

P : populasi tikus

S : sampel

A : adaptasi selama 7 hari

K : kontrol

K- : tikus diberikan makan dan minuman biasa

P1 : tikus diberikan metanol 100% 0,2592 ml/hari+etanol 100% 1,296ml/hari
+aquades 1,4448 ml dengan pemberian 2 hari sekali selama 5 hari

P2 : tikus diberikan metanol 100% 0,2592 ml/hari+etanol 100% 1,296ml/hari
+aquades 1,4448 ml dengan pemberian 2 hari sekali selama 11 hari

P3 : tikus diberikan metanol 100% 0,2592 ml/hari+etanol 100% 1,296ml/hari
+aquades 1,4448 ml dengan pemberian 2 hari sekali selama 17 hari

D : dekapitasi sampel, P1 pada hari ke-6, P2 pada hari ke-12, P3 dan K(-) pada
hari ke-18

3.7.3 Tahap Pembentukan Preparat

Jaringan hepar diambil secepat mungkin setelah tikus diterminasi dengan ukuran sekitar 1 cm³. Kemudian lakukan tahap fiksasi dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan buffer neutral formalin (BNF) 10% . Gunakan BNF 10% dengan pH 6,5-7,5 dan pH idea adalah 7,0. Agar fiksasi jaringan dengan larutan sempurna, maka perbandingan antara organ dan larutan yaitu 1:10, sedangkan lamanya fiksasi minimal 2 hari. Selanjutnya jaringan ditiriskan pada saringan kemudian dipotong menggunakan scalpel dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette*, lalu sejumlah *tissue cassette* dimasukkan dalam keranjang khusus (Muntiha, 2001).

Selanjutnya dilakukan tahap dehidrasi yang bertujuan untuk penarikan molekul air dalam jaringan. Laboratorium Patologi Anatomi RSD. dr. Soebandi menggunakan

alat yang bernama *Tissue Processor* untuk melakukan tahap dehidrasi secara otomatis. Dalam alat ini terdapat alkohol dengan kadar 50%, 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% untuk proses dehidrasi, xylol sebanyak 2 tabung untuk proses *clearing* dan histoplas 2 tabung untuk memadatkan rongga pada organ. Alkohol ini digunakan untuk merendam potongan organ selama masing-masing 1 jam. Lalu dilakukan proses penjernihan atau *clearing* menggunakan xylol/xylene selama masing-masing 30 menit. Seperti namanya, tujuan tahap ini adalah membuat jaringan jernih dan transparan yang nantinya akan mudah untuk diwarnai. Langkah selanjutnya organ direndam dalam cairan histoplas untuk memadatkan rongga pada organ supaya tampak seperti aslinya saat pemotongan. Organ direndam dalam histoplas selama masing-masing 30 menit.

Selanjutnya dilakukan pembedaman (*embedding*) dengan parafin cair menggunakan alat *Tissue Embedding Center*. Tujuan dari pembedaman adalah untuk mengisi jaringan dengan parafin sebagai pengikat jaringan agar tetap memiliki bentuk dan struktur yang sama seperti hidup. (Muntiha, 2001). Ambil *base mold* kemudian isi sebagian dengan parafin cair, ambil dan keluarkan bahan jaringan dari dalam kaset jaringan. Kemudian tanam jaringan dengan cara menekan jaringan untuk memastikan semua jaringan terendam dalam parafin. Tutup dengan *casette* blok, beri nomor sediaan dan tunggu hingga parafin mengering. Setelah kering, lepaskan blok parafin dari *base mold* dan blok parafin siap dipotong.

Proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3-4 μm . Jaringan yang terpotong dikembangkan di atas air dalam *waterbath* bersuhu 46 °C, kemudian ditangkap dengan kaca objek. Kemudian dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60 °C sampai preparat siap diwarnai dengan H.E (Muntiha, 2001).

Pewarnaan preparat di atas gelas objek, direndam dalam xylol I 3 menit, dilanjutkan xylol II 3 menit. Kemudian preparat direndam dalam etanol absolut atau alkohol 100% I dan II masing-masing 3 menit, selanjutnya ke dalam etanol 90% dan etanol 80% masing-masing 3 menit. Bilas dengan aquades selama 1 menit dan

kemudian direndam dalam Harris Hematoxylin selama 6-7 menit. Celupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya dan direndam dalam aquades selama 15 menit. Kemudian teteskan cat eosin dan tunggu selama 1 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 96% I dan II masing-masing 3 menit, alkohol 100 % I dan II masing-masing 3 menit, dan dalam xylol IV dan V masing-masing 3 menit. Preparat diangkat satu persatu dari larutan xylol dalam keadaan basah, diberi satu tetes cairan perekat (DPX) dan selanjutnya ditutup dengan kaca penutup. Hasil pewarnaan dapat dilihat di bawah mikroskop (Muntiha, 2001).

3.7.4 Tahap Pengamatan Preparat

Pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan menggunakan mikroskop cahaya. Pengamatan dilakukan berdasarkan klasifikasi Roenigk yang merupakan kriteria penilaian perubahan histopatologi hepar. Peneliti menggunakan klasifikasi ini, bertujuan untuk dapat menentukan tingkat keparahan yang ditimbulkan oleh pemberian etanol dan metanol. Preparat histopatologi hepar dari tikus yang telah diberi perlakuan akan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x untuk mengamati fibrosis dan inflamasi porta serta 400x untuk mengamati adanya infiltrasi lemak dengan metode zig zag untuk memperhatikan seluruh lapang pandang dalam satu preparat. Peneliti menggunakan sistem *double blind*. Setelah mengamati perubahan tersebut, peneliti dapat menentukan tingkat kerusakan dari setiap kelompok. Berikut merupakan klasifikasi Roenigk (tabel 3.1).

Tabel 3.1 Klasifikasi Roenigk

Fibrosis (100x)	Infiltrasi lemak (400x)	Inflamasi porta (100x)	Nilai
Tidak ada	Ringan atau tidak ada	Ringan atau tidak ada	1
Tidak ada	Sedang atau berat	Sedang atau berat	2
Ringan	Ringan atau tidak ada	Ada atau tidak ada	3a
Sedang atau berat	ringan atau tidak ada	ringan atau tidak ada	3b
Sirosis	Ringan atau tidak ada	Ringan atau tidak ada	4

Sumber: Tanapanit *et al*, 2011

Penilaian dengan menggunakan klasifikasi Roenigk memiliki ketentuan-ketentuan seperti berikut (Brunt *et al*, 2000; Brunt *et al*, 1999; Lumongga, 2008).

1. Menilai fibrosis

- Tidak ada : tidak ditemukan fibrosis diseluruh lapang pandang
- Ringan : zona 3 perisinusoid atau periselular fibrosis
- Sedang : zona 3 perisinusoid atau periseluler fibrosis dengan fibrosis fokal atau periportal fibrosis luas.
- Berat : zona 3 perisinusoid atau periselular fibrosis dan portal fibrosis dengan fibrosis fokal dengan *bridging fibrosis* yang banyak

2. Menilai infiltrasi lemak

- Tidak ada : tidak ditemukan infiltrasi lemak di semua lapang pandang
- Ringan : didominasi makrovesikular dan melibatkan hingga 66% dari lobulus

Sedang : campuran dari makrovesikular dan mikrovesikular
 Berat : meliputi lebih dari 66% lobulus dan umumnya campuran berupa mikrovesikular dan makrovesikular

3. Menilai inflamasi porta

Tidak ada : tidak ditemukan inflamasi porta di seluruh lapang pandang

Ringan : adanya sel mononuklear di beberapa porta

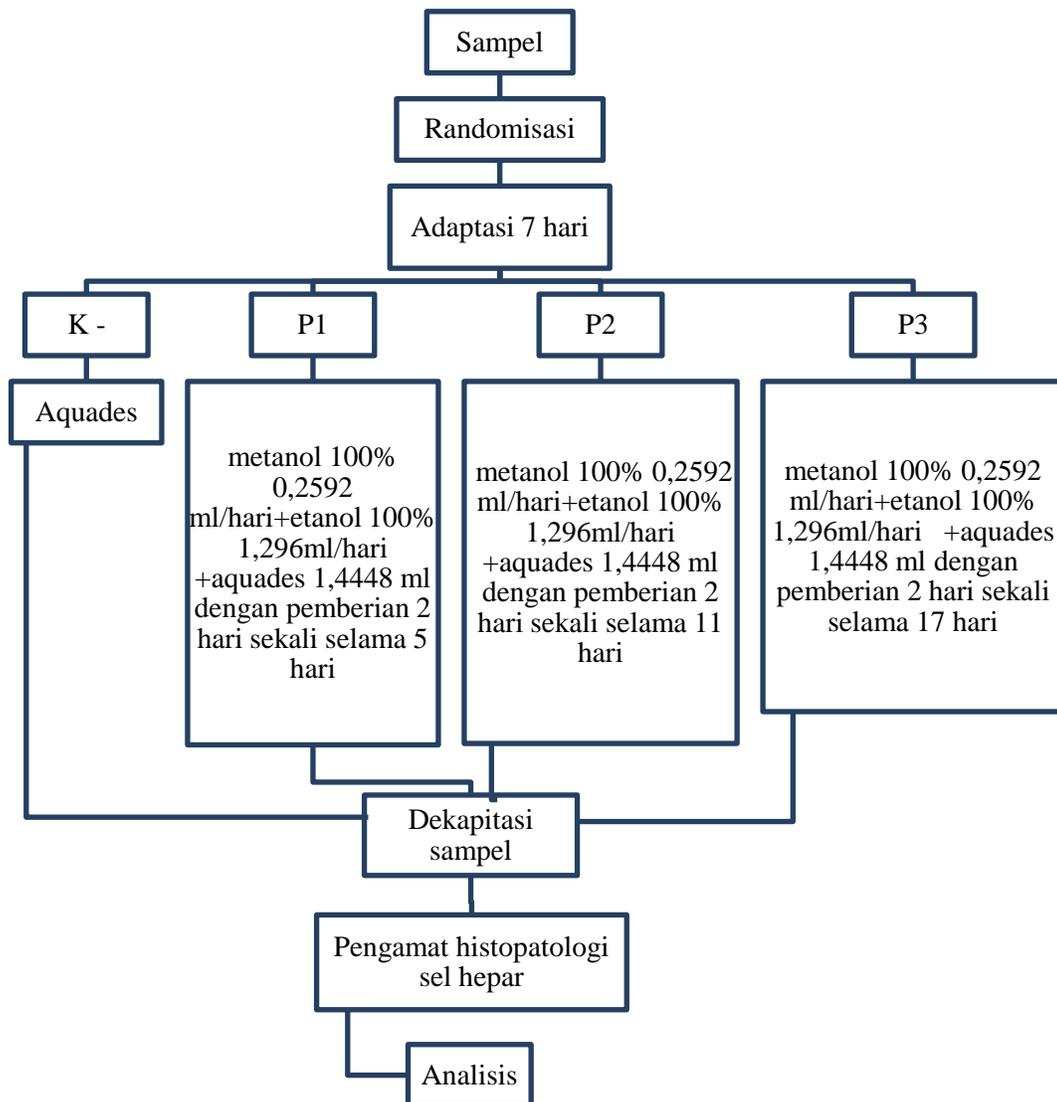
Sedang : adanya sel mononuklear di semua porta

Berat : ditemukan sel mononuklear yang bergerombol padat di seluruh porta

3.8 Teknik Penyajian dan Analisis Data

Data yang akan dianalisis berupa perubahan histopatologi jaringan hepar. Perubahan histopatologi jaringan tersebut dinilai secara semi kuantitatif lalu analisis data yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis*. Kemudian dilanjutkan uji *Mann Whitney* untuk menentukan perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok. Perbedaan tiap kelompok dinilai bermakna atau signifikan apabila nilai $p < 0,05$ (Santjaka, 2015).

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian