



**EFEK MINUMAN KERAS OPLOSAN TERHADAP
PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG
TIKUS WISTAR JANTAN**

SKRIPSI

Oleh

**Shinta Riski Julia
NIM 122010101069**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**EFEK MINUMAN KERAS OPLOSAN TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG
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

Shinta Riski Julia
122010101069

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku, Bapak Mulata Rasiko dan Ibu Suwahmi;
2. Nenekku, Siti Aminah;
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

“Hai orang-orang yang beriman, sesungguhnya (meminum) khamar, berjudi, (berkorban untuk) berhala, mengundi nasib dengan panah, adalah termasuk perbuatan syaitan. Maka jauhilah perbuatan-perbuatan itu agar kamu mendapat keberuntungan.”
(Q.S Al-Maidah 5:90)^{*)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2006. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Pustaka Agung Harapan.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Shinta Riski Julia

NIM : 122010101069

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Minuman Keras Oplosan terhadap Perubahan Histopatologi Lambung Tikus Wistar Jantan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Januari 2016

Yang menyatakan,

Shinta Riski Julia

NIM 122010101069

SKRIPSI

**EFEK MINUMAN KERAS OPLOSAN TERHADAP
PERUBAHAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG
TIKUS WISTAR JANTAN**

Oleh

Shinta Riski Julia
NIM 122010101069

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Yuli Hermansyah, Sp. PD.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Minuman Keras Oplosan terhadap Perubahan Histopatologi Lambung 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. Al Munawir, M. Kes.,Ph. D
NIP. 19690901 199903 1 003

dr. Sugiyanta, M.Ked.
NIP. 19790207 200501 1 001

Penguji III,

Penguji IV,

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

dr. Yuli Hermansyah, Sp.PD
NIP. 19660711 199601 1 001

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember,

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Efek Minuman Keras Oplosan terhadap Gambaran Histopatologi Lambung Tikus Wistar Jantan; Shinta Riski Julia, 122010101069; 2016; 41 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Terdapat banyak kasus pencampuran minuman keras beralkohol dengan bahan-bahan berbahaya yang seharusnya tidak dicampurkan oleh para konsumen minuman beralkohol. Metanol adalah bahan yang paling sering dicampurkan karena harganya jauh lebih murah dan dapat memberikan efek memabukkan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan minuman beralkohol itu sendiri (BPOM, 2014). Minuman keras oplosan banyak menimbulkan kasus kematian dan keracunan. Sebagai contohnya, bahwa pada Oktober 2015 lalu lima anak SD di Kecamatan Arjasa, Jember harus dirawat secara intensif di RSD dr. Soebandi akibat menenggak miras oplosan. Kasus keracunan dan kematian ini tidak hanya terjadi di Jember, namun juga di kota-kota lain seperti, Blitar, Mojokerto, Sumedang, Surabaya dan Malang. Di Bali, ditemukan kasus 45 warga dirawat karena mengalami gejala pusing, mual, mata kabur akibat mengonsumsi arak yang mengandung metanol (Wadrianto, 2012). Penyerapan alkohol 20% berlangsung di lambung (Manzo dan Saavedra, 2010). Alkohol diketahui memiliki efek lokal pada lambung. Rusaknya sawar mukosa lambung dapat menyebabkan gastritis akut atau kronik. Konsumsi alkohol yang berlebihan juga dapat menyebabkan terlepasnya epitel mukosa superfisial (erosi). Bentuk erosi yang parah merupakan penyebab penting perdarahan saluran pencernaan (Hehi *et al*, 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian miras oplosan terhadap perubahan histopatologi lambung selama 5, 11, dan 17 hari.

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan rancangan *post test only control group design*. Hewan yang digunakan adalah tikus jantan strain wistar sebanyak 24

ekor yang dibagi menjadi empat kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok K yang tidak diberikan perlakuan apapun. Kelompok kedua adalah kelompok P1 yang diberikan miras oplosan sebanyak 3ml yang diberikan secara oral selama 5 hari, pada hari pertama, ketiga, dan kelima. Kelompok ketiga adalah kelompok P2 yang diberikan miras oplosan sebanyak 3ml yang diberikan secara oral selama 11 hari, pada hari pertama, ketiga, kelima, ketujuh, kesembilan, dan kesebelas. Kelompok keempat adalah kelompok P3 yang diberikan miras oplosan selama 17 hari, pada hari pertama, ketiga, kelima, ketujuh, kesembilan, kesebelas, ketigabelas, kelimabelas, dan ketujuhbelas. Selanjutnya kelompok P1 akan diterminasi pada hari keenam, kelompok P2 akan diterminasi pada hari keduabelas, serta kelompok P3 dan K akan diterminasi pada hari kedelapan belas. Sebelum dilakukan uji perlakuan, peneliti melakukan uji pendahuluan untuk menentukan kadar etanol dan metanol pada miras oplosan dan dosis miras oplosan. Selanjutnya organ lambung tikus akan dibuat preparat dan diamati di bawah mikroskop cahaya. Penilaian kerusakan mukosa lambung menggunakan skoring *Barthel Manja* dan diamati oleh tiga orang pengamat secara *double blind*. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan akan dianalisis dengan *Kruskal Wallis* dan Uji *Mann Whitney*.

Hasil pengamatan pada kelompok K ditemukan 3 ekor tikus termasuk dalam skor 0, 2 ekor tikus termasuk dalam skor 1, dan 1 ekor tikus termasuk dalam skor 2. Pada kelompok P1 3 ekor tikus termasuk dalam skor 1 dan 3 ekor tikus termasuk dalam skor 2. Pada kelompok P2 ditemukan bahwa semua tikus termasuk dalam skor 2. Dari hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan $p = 0,002$ dilanjutkan uji *Mann-Whitney* yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p < 0,05$ antara kelompok kontrol dan kelompok P2; kelompok kontrol dan kelompok P3; kelompok P1 dan kelompok P3.

Dapat disimpulkan bahwa minuman keras oplosan memiliki pengaruh terhadap perubahan histopatologi organ lambung yang diberikan selama 5, 11, dan 17 hari. Di mana semakin lama paparan miras oplosan, maka akan semakin tinggi tingkat kerusakan mukosa lambung yang terjadi.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Minuman Keras Oplosan terhadap Perubahan Histopatologi Lambung Tikus Wistar Jantan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. orangtuaku, Mulata Rasiko dan Suwahmi, adikku Mesy Rino Nindia, serta nenek yang telah memberikan perhatian, dukungan, dan doa;
2. dr. Enny Suswati, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
3. dr. Rena Normasari, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Yuli Hermansyah, Sp.PD. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. dr. Al Munawir, M.Kes., Ph.D dan dr. Sugiyanta, M.Ked. selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. dr. Kadek Darma Widhiarta, Sp.Gz, M.GK, Sp.OG selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi selama perkuliahan;
6. dr. Ancah CNM., Ph. D selaku Koordinator KTI yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
7. dr. Rini Riyanti, Sp.PK selaku Komisi Etik yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
8. Mbak Lilik, Mas Agus, Pak Dandy, dan analis RSD Soebandi yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;

9. rekan kelompok skripsiku Ardi Perkasa, Krisnha Dian Ayuningtyas, dan Made Masagung Kawiartha yang telah memberikan dukungan dan membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini;
10. sahabatku Putri, Nur, Cici, Silvi, Laily, Yulia, Dimes, angkatan X, dan seluruh anggota Vertex, serta IMSAC, yang telah memberikan dukungan, doa, dan kesabaran dalam mendengarkan setiap keluh kesah selama menimba ilmu sampai proses penyelesaian skripsi ini;
11. rekan-rekan Panacea angkatan 2012 Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah berjuang bersama-sama;
12. semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

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

Jember, 20 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Minuman Keras Oplosan	4
2.2 Metanol dan Etanol	5
2.3 Lambung	9

2.3.1 Anatomi Lambung	9
2.3.2 Histologi Lambung	12
2.4 Ulkus.....	14
2.5 Mekanisme Kerusakan Lambung oleh Metanol dan Etanol	15
2.6 Kerangka Konsep.....	19
2.7 Hipotesis Penelitian.....	20
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian.....	21
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian.....	21
3.3.1 Populasi.....	21
3.3.2 Sampel Penelitian	21
3.3.3 Besar Sampel	22
3.4 Definisi Operasional.....	20
3.4.1 Minuman Keras Oplosan	20
3.4.2 Perubahan Histopatologi Lambung	23
3.5 Rancangan Penelitian	23
3.6 Variabel Penelitian.....	24
3.6.1 Variabel Bebas	24
3.6.2 Variabel Terikat	24
3.6.3 Variabel Kontrol	24
3.7 Alur Pelaksanaan Penelitian.....	25
3.8 Prosedur Penelitian.....	26
3.8.1 Persiapan Sampel Penelitian.....	26
3.8.2 Penentuan Dosis Miras Oplosan	26
3.8.3 Pembuatan Miras Oplosan	27
3.8.4 Perlakuan Hewan Coba.....	27

3.8.5 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Histopatologi Lambung	28
3.8.6 Pengamatan Preparat Histopatologi Lambung	29
3.9 Analisis Data	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil Penelitian	31
4.1.1 Hasil Pengamatan Histopatologi Epitel Lambung	31
4.1.2 Analisis Data	35
4.2 Pembahasan	36
BAB 5. PENUTUP	39
5.1.1 Kesimpulan	39
5.1.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 A. Metabolisme etanol dan B. Metabolisme metanol fase pertama	7
Gambar 2.2 Oksidasi Formaldehid	8
Gambar 2.3 Bagian- bagian pada lambung	9
Gambar 2.4 Lapisan muskular pada lambung	10
Gambar 2.5 Vaskularisasi lambung	11
Gambar 2.6 Lapisan-lapisan pada dinding lambung	12
Gambar 2.7 Sel-sel pembentuk kelenjar tubular lambung	13
Gambar 2.8 Kedalaman ulkus	14
Gambar 2.9 Asetaldehid sebagai penyebab kematian sel	16
Gambar 2.10 Formaldehid di dalam sel	17
Gambar 2.11 Kerangka konsep penelitian	19
Gambar 3.1 Rancangan penelitian.....	23
Gambar 3.2 Alur kerja penelitian	25
Gambar 4.1 Gambaran histopatologi lambung tikus kelompok kontrol dengan perbesaran 400x	32
Gambar 4.2. Gambaran histopatologi lambung tikus kelompok P1 dengan perbesaran 400x	32
Gambar 4.3. Gambaran histopatologi lambung kelompok P2 dengan perbesaran 400x	33
Gambar 4.4. Gambaran histopatologi lambung kelompok P3	34
Gambar 4.5. Gambaran histopatologi lambung	35

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Skor integritas epitel mukosa berdasarkan modifikasi Barthel Manja	29
Tabel 4.5. Distribusi tingkat kerusakan mukosa lambung	35
Tabel 4.6. Hasil uji statistik Mann-Whitney U	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1. SURAT KELAYAKAN ETIK	43
LAMPIRAN 2. HASIL UJI KADAR ETANOL DAN METANOL PADA MIRAS OPLOSAN.....	45
LAMPIRAN 3. PERHITUNGAN DOSIS.....	46
LAMPIRAN 4. TABEL KONVERSI DOSIS.....	48
LAMPIRAN 5. HASIL UJI ANALISIS DATA.....	49

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), minuman beralkohol 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. Terdapat banyak kasus pencampuran minuman keras beralkohol dengan bahan-bahan berbahaya yang seharusnya tidak dicampurkan oleh para konsumen minuman beralkohol. Bahan yang paling sering dicampurkan ke dalam minuman beralkohol adalah metanol. Selain metanol, biasanya konsumen juga sering mencampurkannya dengan bahan-bahan kimia antara lain karbol, formalin, dan obat/ losion anti nyamuk, atau campuran lainnya adalah obat-obatan, seperti obat penenang, obat sakit kepala, dan suplemen makanan. Untuk mengurangi rasa pahit dan bau menyengat, biasanya konsumen juga menambahkan minuman berenergi, susu kental, minuman bersoda, dan beras kencur. Minuman ini sering disebut sebagai minuman keras oplosan. Minuman keras oplosan ini lah yang diduga menimbulkan banyak kasus kematian (BPOM, 2014).

Menurut WHO pada tahun 2012 terdapat 3,3 juta warga dunia meninggal akibat meminum minuman keras (P3DI, 2014). Bahkan menurut Pemerintah Provinsi DKI Jakarta menyatakan bahwa 90% kematian dari minuman keras beralkohol adalah karena oplosan (Deny, 2016). Berdasarkan data dari Pusat Pengkajian, Pengolahan Data dan Informasi (P3DI), DPR RI, terdapat 14 warga Kelurahan Menanggal, Surabaya meninggal dunia dari 17 orang yang pesta miras pada Desember 2013. Pada awal 2014 pun tercatat ada 16 warga Mojokerto meninggal dunia dari 29 orang yang pesta miras dan sembilan warga Lawang, Malang meninggal dunia akibat pesta miras ini (P3DI, 2014). Tahun 2012 di Bali 45 warga dirawat karena mengalami gejala pusing, mual, mata kabur akibat mengonsumsi arak yang mengandung metanol (Wadrianto, 2012). Di daerah Jember

pada sepuluh April 2013 lalu, menurut Soka Radio Jember, warga Jalan Wolter Monginsidi, Kelurahan Kranjingan, Kecamatan Sumbersari, Jember terdapat tiga warga meninggal karena telah meminum minuman keras oplosan. Pada November 2015 juga ditemukan 9 siswa SMKN 5 Jember yang pesta miras oplosan. Dua di antaranya adalah wanita (Minto, 2015). Bukan hanya pelajar SMK, lima anak SD di kecamatan Arjasa harus dirawat secara intensif di RSD dr. Soebandi akibat menenggak miras oplosan pada Oktober 2015 (Mulyono, 2015).

Lambung sebagai salah satu organ yang langsung terpapar oleh bahan minuman keras ini menjadi organ yang mengabsorpsi baik etanol maupun metanol sebagai bahan dasar minuman keras (Putri, 2010). Lambung mampu menyerap 20% dari alkohol yang diminum (Manzo dan Saavedra, 2010). Konsumsi alkohol akan mempengaruhi fungsi lambung, antara lain mempengaruhi produksi asam lambung, menyebabkan lesi akut pada mukosa lambung, dan mempengaruhi motilitas lambung (Dewi *et al*, 2013). Salah satu gangguan abdomen akibat dari konsumsi alkohol adalah tukak lambung. Saat ini, tukak lambung menjadi suatu penyakit yang banyak diderita masyarakat dan dalam kondisi yang parah dapat menjadi penyebab kematian (Wibhisono *et al*, 2014). Alkohol diketahui memiliki efek lokal pada lambung. Rusaknya sawar mukosa lambung dapat menyebabkan gastritis akut atau kronik. Konsumsi alkohol yang berlebihan juga dapat menyebabkan terlepasnya epitel mukosa superfisial (erosi). Bentuk erosi yang parah merupakan penyebab penting perdarahan saluran pencernaan (Hehi *et al*, 2013).

Berdasarkan yang telah diuraikan sebelumnya, dapat kita lihat betapa berbahaya dan banyaknya kasus keracunan minuman keras oplosan ini di Indonesia. Sampai saat ini, belum ada penelitian yang meneliti tentang efek pemberian minuman oplosan terhadap gambaran histopatologi lambung dengan waktu bertingkat. Maka dari itu, penulis tergerak untuk melakukan penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti mengajukan satu rumusan masalah dalam penelitian ini. Bagaimana perubahan histopatologi lambung tikus wistar jantan yang diberikan minuman keras oplosan dengan waktu 5, 11, dan 17 hari?

1.3 Tujuan

Untuk membuktikan bahwa terdapat kerusakan pada gambaran histologi lambung pada tikus wistar jantan yang diberikan minuman keras oplosan dengan waktu 5, 11, dan 17 hari.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah:

a. Manfaat bagi peneliti

Peneliti dapat mengaplikasikan ilmunya dalam bidang histopatologi khususnya pada lambung serta dapat menambah pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan penelitian.

b. Manfaat bagi institusi pendidikan

Penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber informasi untuk peneliti selanjutnya yang akan melanjutkan penelitian lebih jauh mengenai minuman oplosan.

c. Manfaat bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber artikel yang dapat dibaca masyarakat luas mengenai dampak dari minuman keras terutama pada kerusakan mukosa lambung.

d. Manfaat bagi pelayanan kesehatan

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber dalam penentuan alur penanganan pasien tukak lambung akibat minuman keras oplosan di pusat pelayanan kesehatan.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Keras Oplosan

Dari cara pembuatannya, minuman keras menurut Peraturan Presiden Nomor 74 Tahun 2013 tentang “ Pengendalian dan Pengawasan Minuman Beralkohol” yang diizinkan beredar di Indonesia terdiri dari dua jenis, yaitu:

1. Minuman Beralkohol: 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.
2. Minuman Beralkohol Tradisional: adalah minuman beralkohol yang dibuat secara tradisional dan turun temurun yang dikemas secara sederhana dan pembuatannya dilakukan sewaktu-waktu, serta dipergunakan untuk kebutuhan adat istiadat atau upacara keagamaan. Contoh dari minuman beralkohol tradisional adalah cap tikus, ciu, cukrik, moke/sopi, lapen, ballo, arak bali, dan tuak (BPOM, 2014).

Dan berdasarkan kandungan alkoholnya, minuman keras yang diizinkan beredar di Indonesia terbagi dalam tiga golongan, yaitu:

1. Minuman beralkohol Golongan A : adalah minuman yang mengandung etil alkohol dengan kadar sampai 5 %.
2. Minuman beralkohol Golongan B : adalah minuman yang mengandung etil alkohol lebih dari 5% hingga 20 %.
3. Minuman beralkohol Golongan C : adalah minuman yang mengandung etil alkohol lebih dari 20% hingga 55% (BPOM, 2014).

Minuman keras oplosan merupakan minuman keras beralkohol yang dicampur dengan berbagai jenis bahan lain. Bahan lain yang paling sering dicampurkan adalah metanol. Selain metanol, biasanya konsumen juga sering mencampurkannya dengan bahan-bahan kimia antara lain karbol, formalin, dan obat/losion anti nyamuk, atau campuran lainnya adalah obat-obatan, seperti obat penenang, obat sakit kepala, dan suplemen makanan. Untuk mengurangi rasa pahit

dan bau menyengat, biasanya konsumen juga menambahkan minuman berenergi, susu kental, minuman bersoda, dan beras kencur (BPOM, 2014).

Pada awalnya, konsumen meminum minuman beralkohol adalah untuk mendapatkan perasaan senang tanpa sebab. Namun, kebanyakan orang biasanya tidak sabar menunggu efek ini datang, akhirnya mereka menambahkan campuran lain untuk membuat efek ini muncul lebih cepat, seperti metanol. Selain itu, bagi golongan masyarakat menengah ke bawah, meminum minuman keras berkadar alkohol tinggi menjadi sebuah sarana pembuktian diri. Sehingga mereka mencari cara agar kadar alkohol dalam minuman keras yang mereka minum menjadi tinggi dengan harga yang relatif murah, yakni dengan menambahkan metanol (BPOM, 2014).

2.2 Metanol dan Etanol

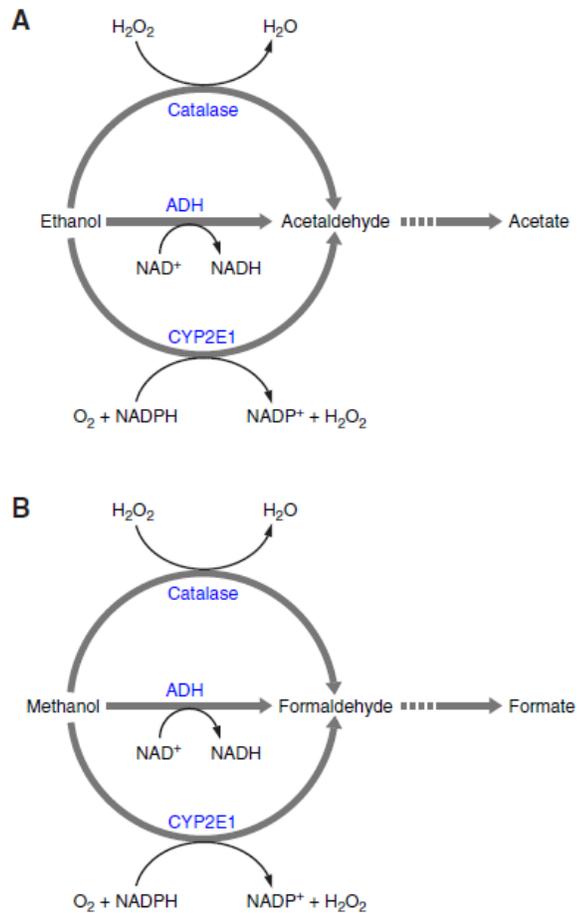
Metanol dan etanol adalah golongan alkohol, khususnya alkohol primer (*Dewi et al, 2013*). Metanol berbentuk cair, tidak berwarna, berbau khas, dan memiliki rumus molekul CH_3OH . Metanol juga dapat larut dalam air, air dingin atau pun panas, benzen, etanol, eter, keton, dan pelarut organik. Metanol banyak digunakan dalam industri, seperti pembuatan cat, pelarut dalam industri, penghilang vernis, sebagai penguat bahan bakar, pembuat formaldehid dan asam asetat, serta fungsi lainnya (BPOM, 2014).

Secara umum, metanol dapat masuk ke tubuh manusia melalui empat cara, yakni dengan terhirup, kontak dengan mata, kontak dengan kulit, dan tertelan. Efek yang ditimbulkan pun dapat terjadi pada paparan jangka pendek maupun jangka panjang. Paparan jangka pendek metanol dapat menyebabkan mual, iritasi saluran yang dilalui, penurunan kesadaran, sakit kepala, kulit kemerahan, mata nyeri, mata merah, mata terasa terbakar, nyeri perut, napas pendek, kebutaan, kejang, hingga kematian. Pada paparan jangka panjang, efeknya sama, hanya saja prosesnya yang lebih lama dan dapat terjadi kerusakan organ target hingga kematian. Efek yang ditimbulkan metanol ini dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti dosis, frekuensi paparan, dan ada atau tidaknya makanan di dalam lambung (BPOM, 2014).

Etanol atau ethyl alkohol adalah suatu cairan tidak berwarna, dan berbau khas, dengan rumus molekul C_2H_5OH . Etanol dapat larut dalam air, eter, aseton, dan klorofom. Etanol biasa digunakan sebagai salah satu komponen bahan pembersih, bahan sterilisasi peralatan medis, sebagai pengawet atau pelarut obat, atau pelarut industri dan penelitian (BPOM, 2014).

Etanol dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui beberapa cara, yakni dengan terhirup, kontak dengan mata, kontak dengan kulit, dan tertelan. Paparan jangka pendek etanol dapat menyebabkan iritasi, gangguan emosional, gangguan koordinasi motorik, takikardi, berkeringat, mual, muntah, penurunan kesadaran, kejang, hingga koma. Keracunan etanol dikatakan ringan hingga sedang bila memiliki gejala seperti rasa gembira yang berlebihan, gangguan keseimbangan, nystagmus (bola mata bergerak tidak beraturan), berkurangnya ketajaman penglihatan, hilangnya rasa malu/batasan moral, perilaku agresif, mual, muntah, kulit kemerahan, dan dapat terjadi takiaritmia supraventrikular. Sementara pada keracunan yang berat, korban/pasien dapat mengalami koma, depresi sistem pernapasan, aspirasi paru, hipoglikemia, dan hipotermia. Konsumsi etanol dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan terjadinya sirosis pada hati. Toksisitas pada hati termasuk infiltrasi lemak ke dalam hati, hepatitis alkoholik, dan sirosis. Perdarahan saluran cerna dapat terjadi karena gastritis yang diinduksi oleh alkohol, esophagitis, dan duodenitis (BPOM, 2014).

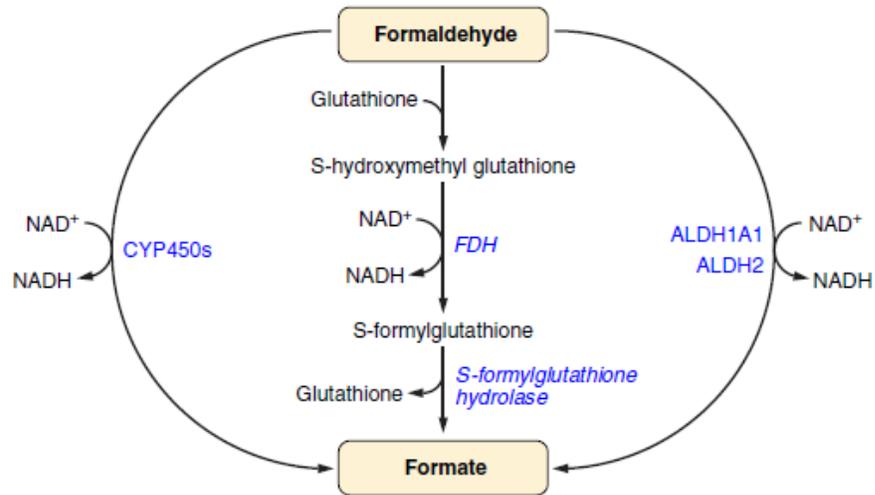
Mengacu pada gambar 2.1, metabolisme metanol dan etanol menjadi gugus aldehidnya dapat melalui tiga jalur. Di mana masing-masing jalur diperantari oleh enzim yang berbeda, yakni alkohol dehidrogenase (ADH), cytochrom P450, dan enzim katalase. Dari ketiga jenis enzim ini, alkohol dehidrogenase (ADH) lah yang memiliki peran terbesar dalam mengoksidasi metanol dan etanol. Di mana ia mampu mengoksidasi 90% metanol dan etanol yang masuk ke tubuh, sedangkan 9% oleh cytochrom P450, dan 1 % lainnya oleh enzim katalase (Dhorokov *et al*, 2015). Etanol akan dioksidasi menjadi acetaldehid dan metanol akan dioksidasi menjadi formaldehid.



Gambar 2.1 **A.** Metabolisme etanol dan **B.** Metabolisme metanol fase pertama (Dhorokhov *et al*, 2015)

Setelah melalui fase pertama metabolisemenya, etanol dan metanol yang masuk ke tubuh akan dioksidasi pada fase kedua, membentuk gugus asam. Dalam fase kedua ini, asetaldehid hanya mampu diubah menjadi asam asetat dengan bantuan enzim aldehyd dehidrogenase (ALDH) (Manzo dan Saavedra, 2010).

Sedangkan formaldehid akan diubah menjadi asam format melalui tiga jalur yang digambarkan pada Gambar 2.2, yakni dengan bantuan enzim cytochrom P450, formaldehid dehidrogenase dan S-formilglutation hidrolase, serta ALDH (Dhorokov *et al*, 2015) .

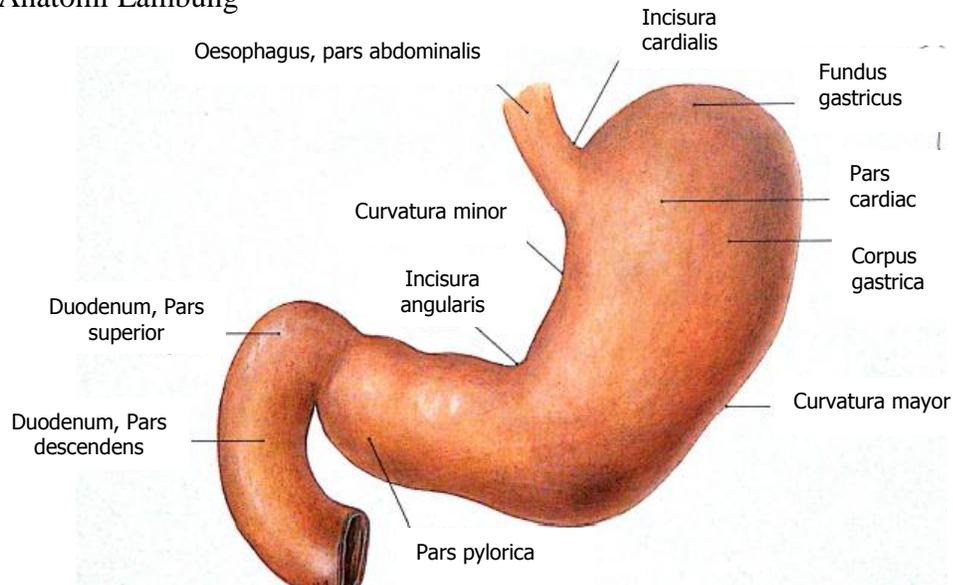


Gambar 2.2 Oksidasi Formaldehid (Dorokhov *et al*, 2015)

Selanjutnya, asam asetat akan diubah menjadi CO_2 dan air melalui siklus krebs (George dan Figueredo, 2010). Begitu juga dengan asam format, akan diubah menjadi CO_2 dan air.

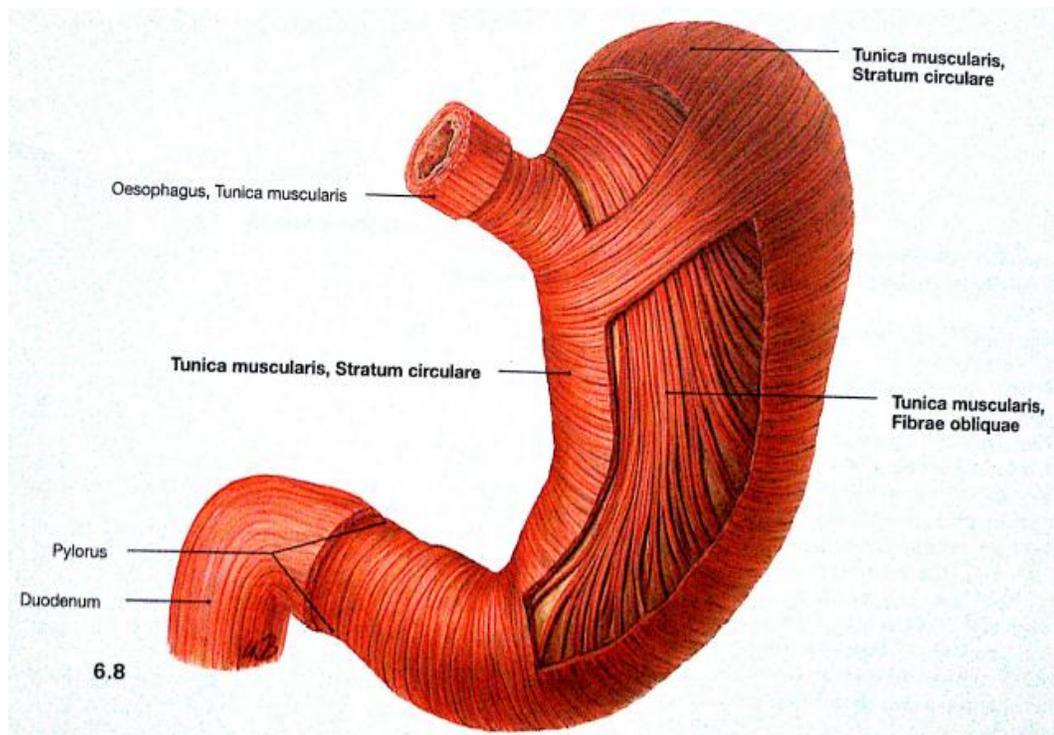
2.3 Lambung

2.3.1 Anatomi Lambung



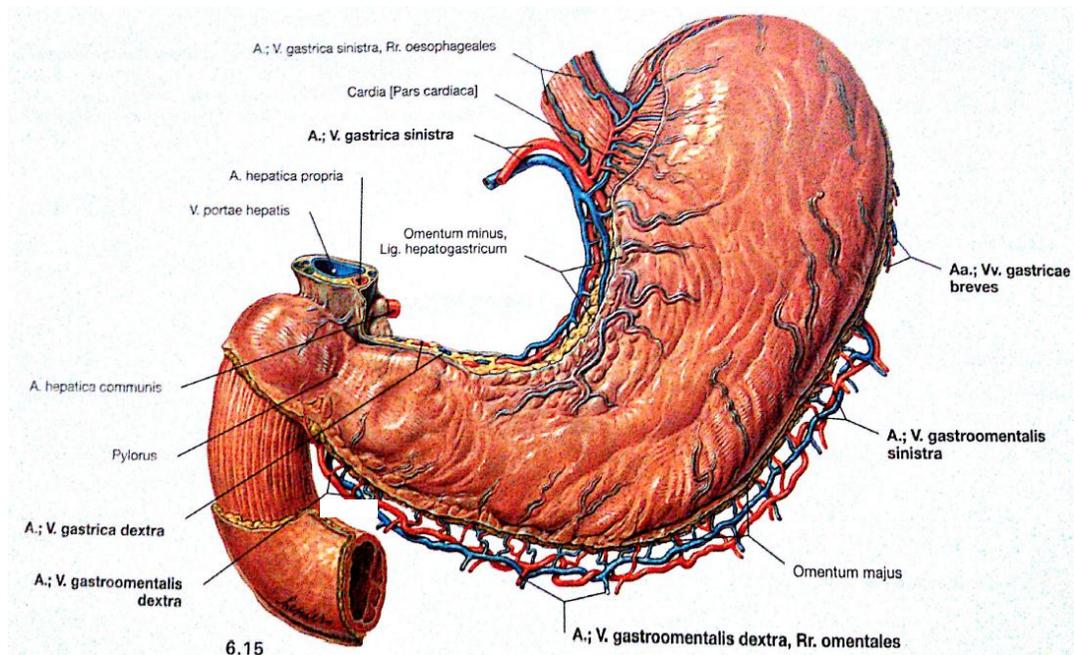
Gambar 2.3 Bagian- bagian pada lambung (Paulsen dan Waschke, 2010)

Gambar 2.3 menjelaskan bahwa lambung merupakan organ berongga saluran pencernaan yang terletak tepat di bawah costae pada regio hypocondrica sinistra. Lambung memiliki tiga bagian, yakni Pars Cardiaca (jalan masuk Lambung), Corpus Gastricum (bagian utama dengan fundus gastricus di superior), dan Pars Pylorica (tempat keluar dari lambung yang berlanjut sebagai antrum pyloricum dan Canalis Pyloricus). Lambung memiliki dinding anterior dan posterior (Pariet anterior dan posterior). Curvatura minor terletak di sisi kanan, curvatura major di sisi kiri (Paulsen dan Waschke, 2010).



Gambar 2.4 Lapisan muskular pada lambung (Paulsen dan Waschke, 2010)

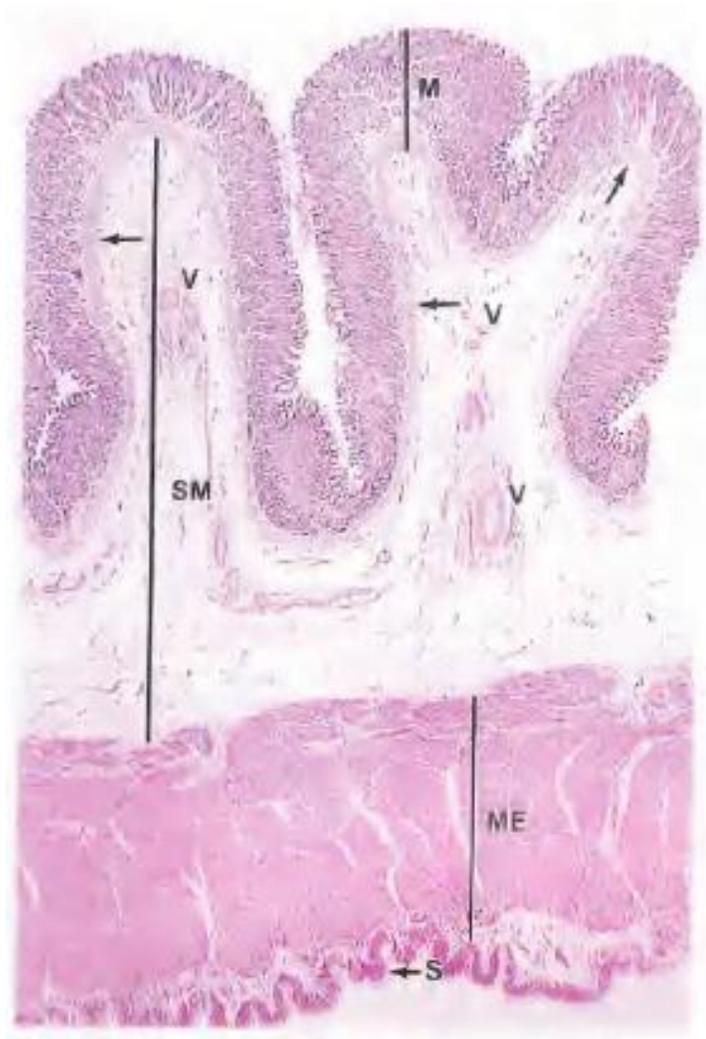
Dapat dilihat pada Gambar 2.4, dinding lambung terdiri dari tiga lapis muskular (tunica muskularis) tapi tidak ditemukan secara konsisten di semua reggio lambung. Lapisan longitudinal eksterna (stratum longitudinale) berbatasan dengan lapisan sirkular (stratum sirkulare). Lapisan paling dalam terdiri dari serat otot oblik (Fibrae obliquae) yang hilang pada curvatura minor (Paulsen dan Waschke, 2010).



Gambar 2.5 Vaskularisasi lambung (Paulsen dan Waschke, 2010)

Sesuai dengan Gambar 2.5, lambung sebagai organ intraperitoneal, permukaan luar lambung ditutupi oleh peritoneum viscerale yang membentuk tunica serosa. Bagian ventral lambung berdekatan dengan hepar, diafragma, dan dinding abdomen, bagian dorsal lambung berdekatan dengan organ limpa, ginjal, glandula adrenal, pancreas, dan mesocolon transversum. Pembuluh darah yang memperdarahi lambung adalah arteri dan vena gastrica sinistra, arteri dan vena gastrica dextra, arteri dan vena gastromentalis sinistra, arteri dan vena gastromentalis dextra, serta arteri dan vena gastrica posterior (Paulsen dan Waschke, 2010).

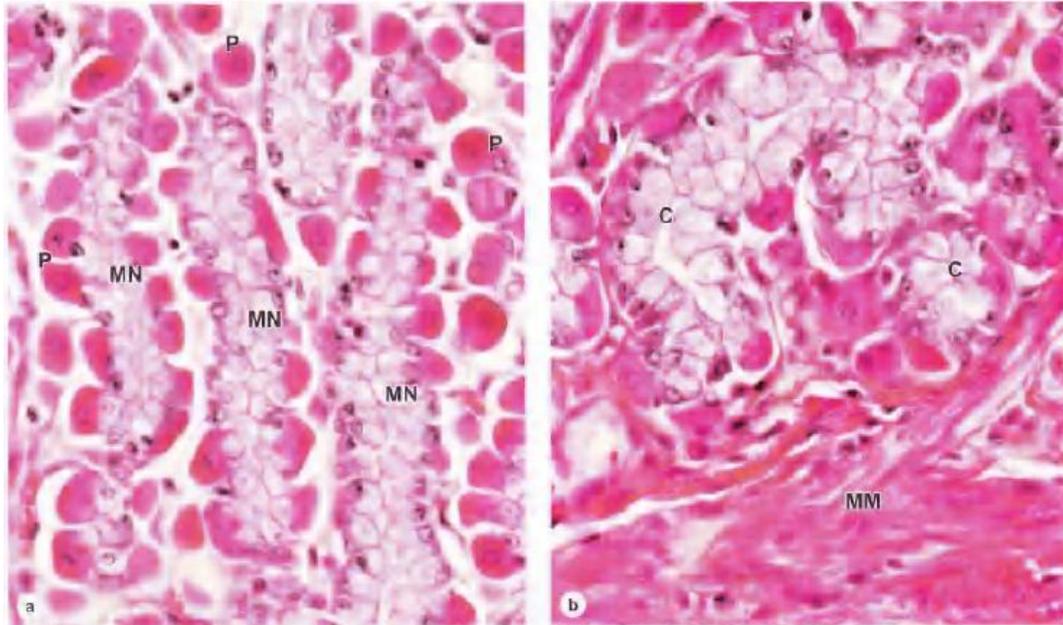
2.3.2 Histologi Lambung



Gambar 2.6 Lapisan-lapisan pada dinding lambung; M: mukosa, SM: submukosa, ME: muskularis eksterna, S: serosa. (Mescher, 2010)

Gambar 2.6 menjelaskan lapisan histologis dinding lambung. Secara histologis, dinding pada semua regio lambung terdiri atas empat lapisan utama yakni, mukosa, submukosa, muskularis eksterna, dan serosa. Epitel yang melapisi mukosa lambung membentuk lekukan-lekukan dalam yang disebut sebagai faveola gastrika.

Pada faveola gastrika ini bermuara kelenjar tubular bercabang dari lambung. Di mana kelenjar tubular ini berbeda di setiap regionya (Mescher, 2010).



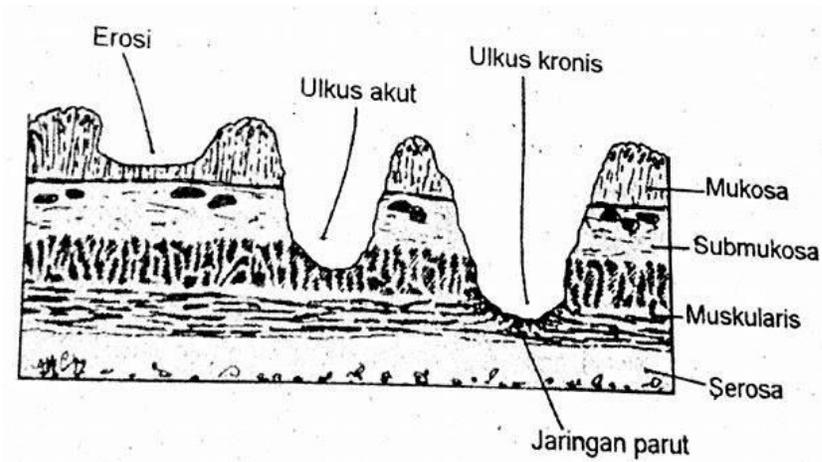
Gambar 2.7 Sel-sel pembentuk kelenjar tubular lambung; P: sel parietal, MN: sel mukosa leher, C: chief cell (Mescher, 2010)

Pada regio kardi dan pilorus, kelenjar tubular ini bercabang dan bergelung pada bagian sekretornya yang disebut sebagai kelenjar kardia dan kelenjar pilorus. Sedangkan pada regio korpus, kelenjar tubular terdiri atas lima jenis sel, yakni sel mukosa leher, sel parietal, sel zimogen (*chief cell*), sel enteroendokrin, dan sel punca. Sel mukosa leher berperan dalam sekresi mukus lambung. Tampak pada Gambar 2.7, sel parietal tercatat asidofilik dan memiliki fungsi dalam sekresi asam hidroklorida (HCl). Sel zimogen atau *chief cell* pada Gambar 2.7, berperan dalam sekresi pepsinogen yang akan segera berubah bentuk menjadi aktif setelah dilepaskan dalam lingkungan lambung yang asam. Selain itu, sel zimogen juga berperan dalam menghasilkan enzim lipase dan hormon leptin. Sel enteroendokrin menghasilkan berbagai jenis hormon, salah satunya serotonin, selain itu juga berperan menghasilkan

hormon gastrin bersama dengan sel G. Sel punca merupakan sel kolumnar rendah dengan inti basal dan membelah secara asimetris (Mescher, 2010).

Lapisan submukosa lambung terdiri atas pembuluh darah dan pembuluh limfe. Lapisan ini disebut dengan sel-sel limfoid, makrofag, dan sel mast. Pada lapisan muskularis eksterna, lambung dilapisi oleh otot polos yang tersusun dalam tiga arah utama, mulai dari bagian terluar tersusun longitudinal, sirkular, dan oblik pada bagian terdalam. Pada regio pilorus, otot polos ini mengalami penebalan sehingga membentuk sfingter pilorus. Lapisan serosa lambung terdiri atas pembuluh darah, pembuluh limfe, jaringan lemak, dan selapis epitel gepeng (mesotel) (Mescher, 2010).

2.4 Ulkus



Gambar 2.8 Kedalaman ulkus (Price dan Lorraine, 2005)

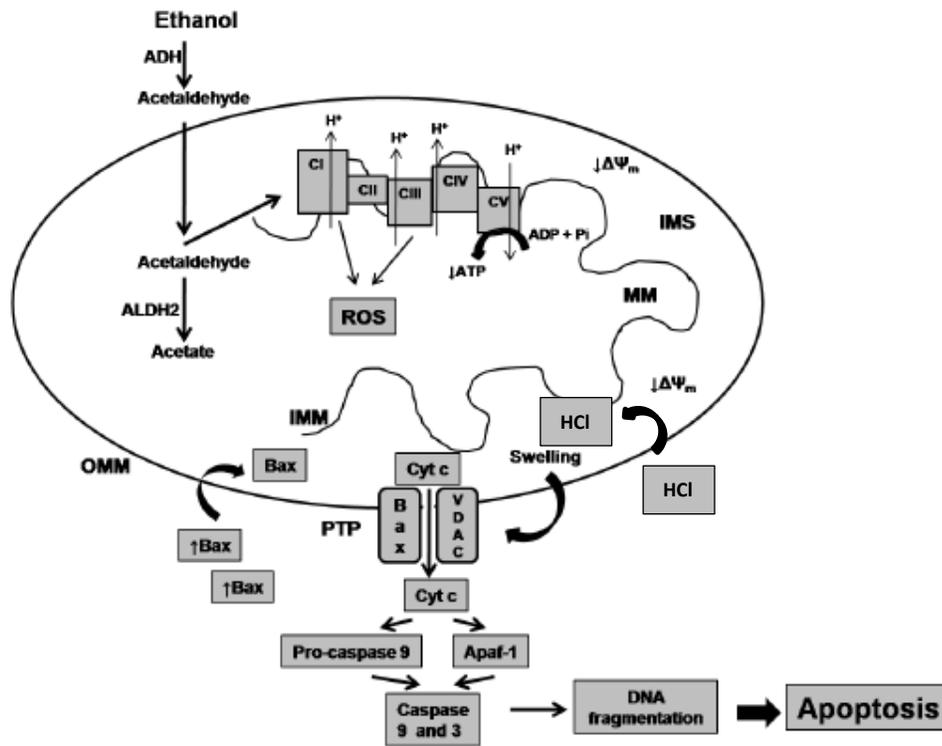
Ulkus didefinisikan sebagai daerah diskontinuitas permukaan epitel. Ulkus peptikum adalah putusnya kontinuitas mukosa lambung yang meluas sampai di bawah epitel. Kerusakan mukosa yang tidak meluas sampai ke bawah epitel disebut sebagai erosi. Ulkus peptikum dapat terletak di setiap bagian saluran cerna yang

terkena asam lambung, yaitu esofagus, lambung, duodenum, bahkan jejunum (Price dan Lorraine, 2005).

Etiologi terjadinya ulkus peptikum yang paling utama adalah kerusakan sawar mukosa lambung. Di mana kerusakan sawar ini disebabkan oleh beberapa zat, di antaranya NSAID, garam empedu, dan alkohol. Zat- zat ini dapat mendestruksi mukosa lambung, sehingga memungkinkan difusi balik HCl yang mengakibatkan kerusakan jaringan. Histamin sebagai salah satu mediator inflamasi yang dikeluarkan akan merangsang sekresi HCl lebih banyak lagi dan meningkatkan permeabilitas kapiler terhadap protein. Mukosa menjadi edema, dan sejumlah protein akan hilang. Mukosa kapiler dapat rusak, mengakibatkan hemoragi interstitial dan perdarahan (Price dan Lorraine, 2005).

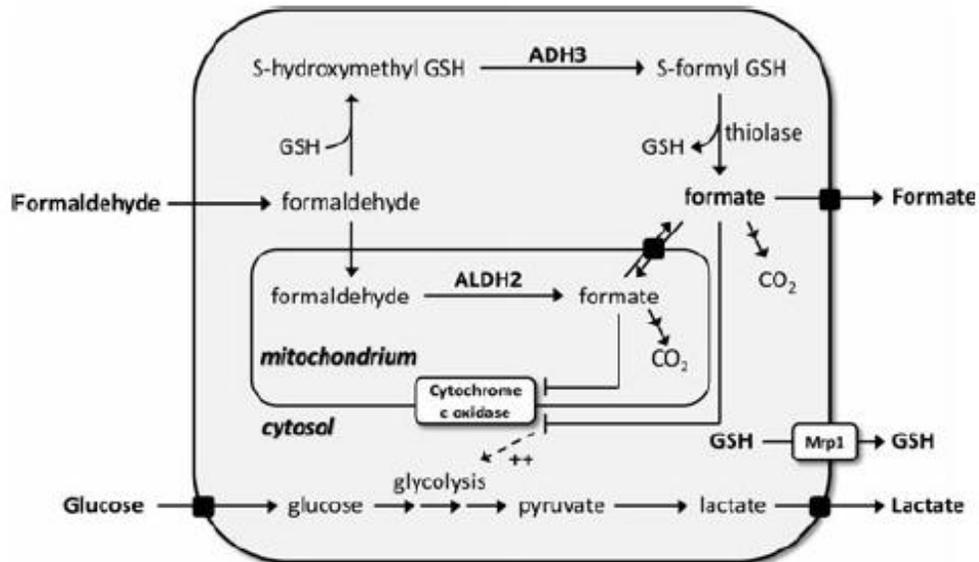
2.5 Mekanisme Kerusakan Lambung oleh Metanol dan Etanol

Mekanisme kerusakan lambung oleh metanol dan etanol dipengaruhi oleh metabolisme zat tersebut di dalam sel-sel lambung. Metabolisme fase pertama dari etanol dan metanol adalah dengan bantuan enzim ADH. Di mana enzim ini juga ditemukan pada sel-sel lambung. Enzim ini akan merubah etanol menjadi acetaldehid dan metanol menjadi formaldehid (Dorokov *et al*, 2015).



Gambar 2.9 Asetaldehid sebagai penyebab kematian sel (Manzo dan Saavedra, 2010)

Gambar 2.9 menjelaskan bahwa asetaldehid ini selanjutnya akan dirubah oleh ALDH menjadi asetat. Di mana ALDH ini juga dapat ditemui di sel-sel lambung (Chrostek *et al*, 2001). Apabila ALDH tidak berfungsi dengan baik, maka asetaldehid akan dapat mempengaruhi rantai transport elektron dan menghasilkan banyak *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selain itu juga mempengaruhi rantai fosforilasi oksidatif sehingga menurunkan produksi ATP. Selanjutnya, ROS ini akan menyebabkan stres oksidatif yang berujung pada kematian sel. Di mana stres iksidatif ini akan mempengaruhi permeabilitas membran sel sehingga terjadi translokasi dari faktor pro-apoptotik yang akan mengaktifkan enzim-enzim apoptotik dan mencetuskan kematian sel (Manzo dan Saavedra, 2010).



Gambar 2.10 Formaldehid di dalam sel (Tulpule dan Dringen, 2013)

Merujuk pada Gambar 2.10, formaldehid juga merupakan suatu senyawa aktif yang dapat mempengaruhi keseimbangan sel. Ketika formaldehid masuk ke dalam sel lambung, enzim ALDH akan mengubahnya menjadi asam format. Sebagai suatu senyawa yang aktif, formaldehid akan menginduksi Mrp1, sehingga akan mengeluarkan GSH dari dalam sel. Hal ini akan memicu suatu stres oksidatif karena GSH merupakan suatu antioksidan yang penting untuk sel. Selanjutnya, asam format ini akan menghambat respirasi mitokondria, sehingga akan menurunkan produksi ATP. Asam format juga akan mempercepat proses glikolisis, sehingga meningkatkan produksi asam laktat (Tulpule dan Dringen, 2013).

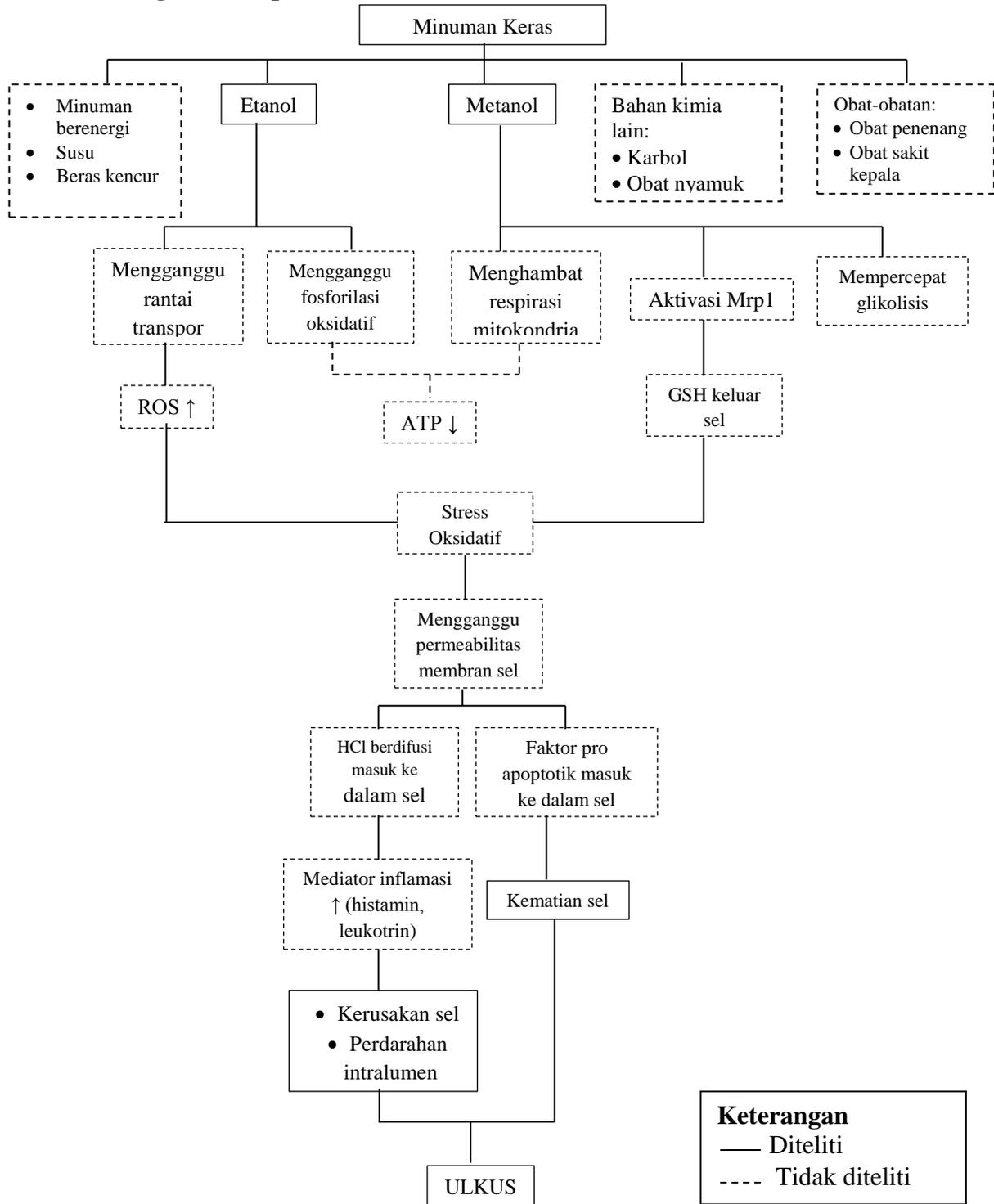
Perubahan pada mukosa lambung yang diakibatkan metanol sama halnya perubahan yang diakibatkan oleh etanol (Chrostek *et al*, 2015). Di dalam lambung, etanol akan mempengaruhi sekresi HCl, menginduksi adanya ulkus pada mukosa lambung, dan mengganggu motilitas lambung (Dewi *et al*, 2013).

Etanol dapat meningkatkan sekresi HCl melalui peningkatan metabolisme sel parietal dan menghasilkan lebih banyak HCl (Chari *et al*, 1992). Selain itu, etanol

juga meningkatkan sekresi hormon gastrin yang selanjutnya menginduksi produksi HCl lebih banyak lagi (Bode dan Bode, 1997).

Ulkus yang terjadi pada mukosa lambung setelah induksi etanol, terjadi karena adanya peningkatan produksi mediator-mediator inflamasi, di antaranya histamin dan leukotrin (Chari *et al*, 1993; Bode dan Bode, 1997). Selain itu, induksi etanol ini juga dapat menurunkan produksi prostaglandin sebagai *barrier* mukosa lambung (Bode dan Bode, 1997).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.11 Kerangka konsep penelitian

Minuman keras oplosan, yang sebagian besar terdiri atas metanol dan etanol, dapat memicu terjadinya ulkus melalui mekanisme yang menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif akan mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga memudahkan zat-zat tertentu untuk keluar masuk sel, seperti HCl dan faktor pro-apoptotik. HCl yang berdifusi masuk ke dalam sel akan memicu terjadinya kerusakan sel. Faktor pro apoptotik akan memicu terjadinya kematian sel. Kerusakan sel dan kematian sel ini lah yang menyebabkan terjadinya ulkus di lambung.

2.7 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah adanya pengaruh pemberian minuman oplosan terhadap gambaran histopatologi lambung tikus wistar jantan dengan waktu 5, 11, dan 17 hari .

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratories* secara *in vivo* dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat dari adanya perlakuan tertentu.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di empat tempat, antara lain UPT Pengujian Sertifikasi Mutu Barang Lembaga Tembakau Jember untuk mengetahui kadar etanol dan metanol dalam miras oplosan di Jember, Laboratorium Farmakologi Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember sebagai lokasi pemeliharaan sampel, Laboratorium Patologi Anatomi RSUD dr. Soebandi untuk pembuatan preparat, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk pengamatan histopatologi sel lambung. Waktu yang dibutuhkan untuk penelitian adalah bulan Oktober sampai dengan November 2015.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi yang akan digunakan untuk penelitian ini adalah tikus strain wistar. Jenis kelamin yang dipilih dari populasi tikus wistar ini adalah jantan.

3.3.2 Sampel Penelitian

Kriteria inklusi dalam menentukan sampel dalam penelitian ini adalah tikus jantan strain wistar, berumur 2-3 bulan dengan berat rata-rata 100-200 gram,

dan aktif bergerak. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah tikus yang mati sebelum proses randomisasi.

3.3.3 Besar Sampel

Pada penelitian ini dilakukan pengulangan pada tiap kelompok untuk mencegah adanya bias. Penghitungan besarnya pengulangan menggunakan rumus Frederer sebagai berikut.

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

Di mana p = jumlah perlakuan dan n = jumlah ulangan. Peneliti menggunakan 4 kelompok dalam penelitian ini, di mana masing-masing kelompok berbeda perlakuan, sehingga $p=4$, maka :

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

$$n-1 \geq 15/3$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Didapatkan hasil minimal 6 kali pengulangan, maka peneliti memilih jumlah enam ekor tikus dalam tiap perlakuan, sehingga jumlah total yang digunakan adalah 24 ekor.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Miras Oplosan

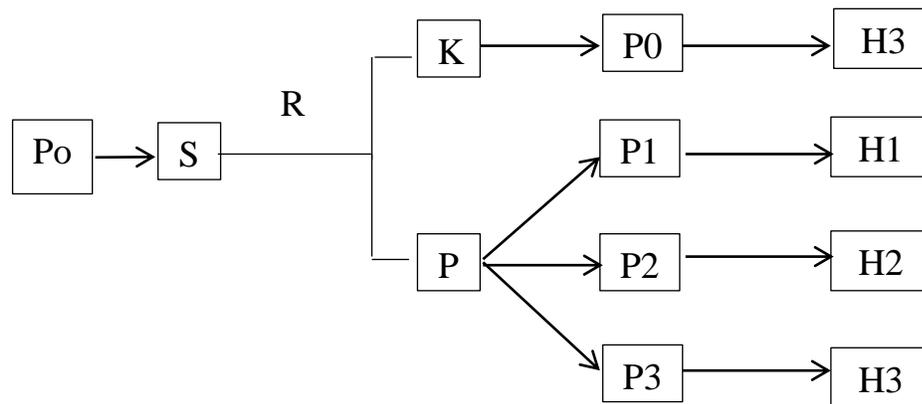
Miras oplosan dalam penelitian ini merupakan campuran metanol, etanol dan aquades. Metanol sebanyak 0,23 g dan etanol sebanyak 1,02 g yang dicampur dengan aquades hingga volumenya 3ml. Sehingga didapatkan 43,2% etanol dan 8,64% metanol dalam larutan 3ml.

3.4.2 Perubahan Histopatologi Lambung

Perubahan histopatologi lambung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah adanya perubahan dalam integritas mukosa lambung yang dipulas oleh Hematoksilin Eosin dan diamati di bawah mikroskop cahaya.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

Po : Populasi penelitian

R : Randomisasi sampel

S : sampel penelitian

K : kelompok kontrol, tidak diberikan perlakuan apa pun

P1 : Kelompok perlakuan 1 dengan pemberian miras oplosan selama 5 hari

P2 : Kelompok perlakuan 2 dengan pemberian miras oplosan selama 11 hari

- P3 : Kelompok perlakuan 3 dengan pemberian miras oplosan selama 17 hari
- H1 : dekapitasi dan pembuatan preparat histopatologi lambung sampel kelompok pada hari ke 6
- H2 : dekapitasi dan pembuatan preparat histopatologi lambung sampel kelompok pada hari ke 12
- H3 : dekapitasi dan pembuatan preparat histopatologi lambung sampel kelompok pada hari ke 18

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu pemberian miras oplosan. Waktu yang digunakan pada masing-masing kelompok perlakuan adalah 5, 11, dan 17 hari.

3.6.2 Variabel Terikat

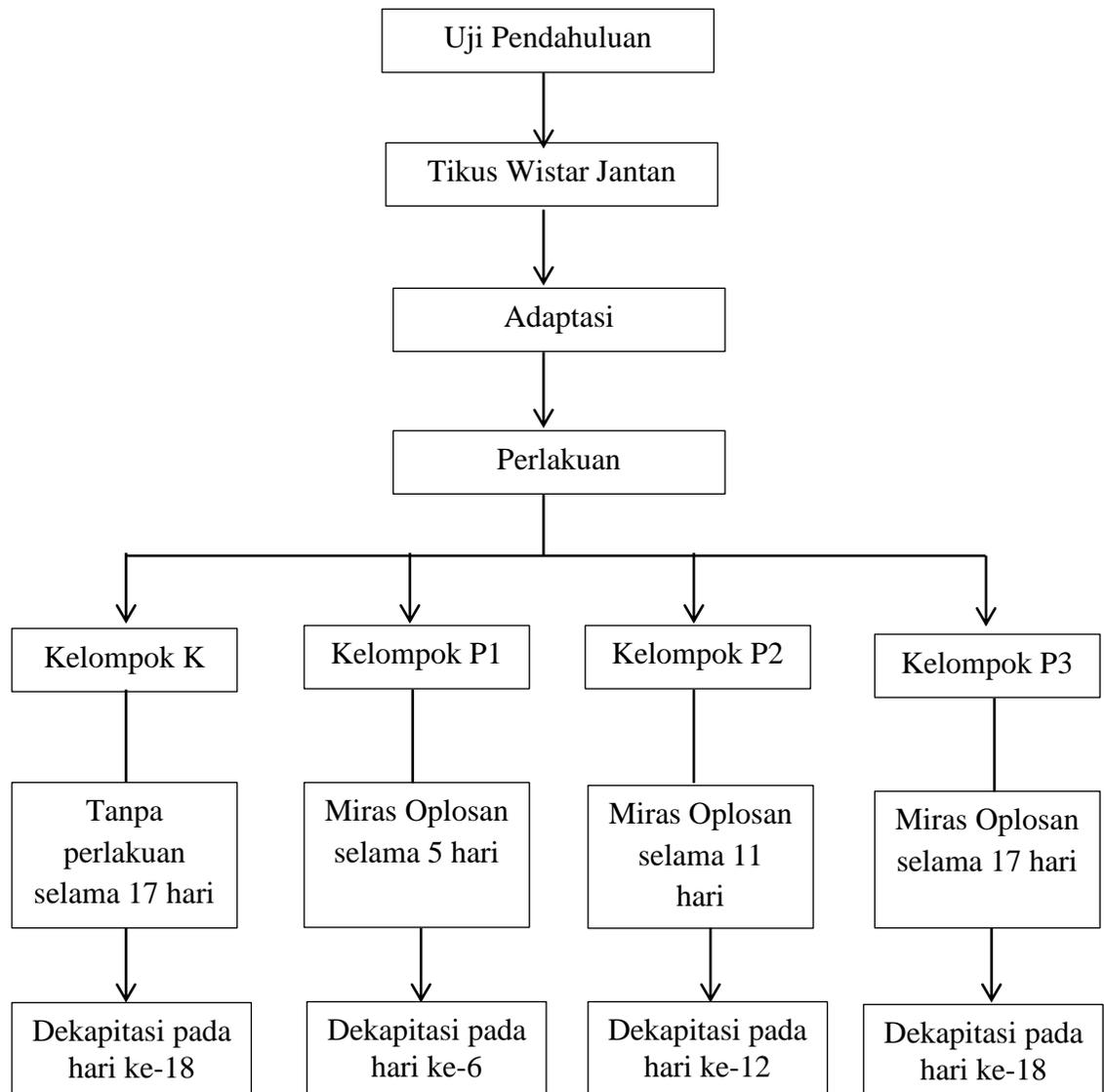
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah perubahan histopatologi lambung. Perubahan histologi lambung akan diukur dengan menggunakan skor *Barthel Manja*.

3.6.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah.

- a. Dosis miras oplosan.
- b. Sampel penelitian.
- c. Makanan dan minuman sampel.

3.7 Alur Kerja Penelitian



Gambar 3.2 Alur kerja penelitian

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Persiapan Sampel Penelitian

Persiapan sampel penelitian ini terdiri atas randomisasi dan pengelompokan sampel, serta adaptasi sampel. Dalam randomisasi dan pengelompokan sampel dilakukan metode *simple random sampling* dengan pengundian untuk membagi sampel menjadi empat kelompok.

Adaptasi sampel dilakukan selama tujuh hari. Cara untuk melakukan adaptasi sampel ini adalah dengan memberikan pakan dan minum, mengganti media kandang secara rutin selama waktu yang telah ditetapkan.

3.8.2 Tahap Penentuan Dosis

Pembuatan miras oplosan dalam penelitian ini didasarkan pada hasil uji pendahuluan. Hasil uji *gas chromatography* menunjukkan bahwa sampel miras oplosan yang diperoleh dari POLRES Jember memiliki kadar 20% etanol dan 4% metanol. Uji pendahuluan dilakukan di UPT Pengujian Sertifikasi Mutu Barang Lembaga Tembakau Jember.

Anjuran minum minuman keras untuk laki-laki dewasa adalah sebanyak 240-480ml, sehingga dipilih 360ml. Konsentrasi yang didapat dari hasil uji pendahuluan selanjutnya dikonversi untuk tikus sehingga diperoleh 43,2% etanol dan 8,64% metanol dalam 3ml larutan miras oplosan atau dapat dituliskan 1,296ml etanol dan 0,2592ml metanol dalam 1,4448ml aquades.

Dalam satu kali penelitian ini didapatkan 108x pemberian miras oplosan untuk semua tikus dalam kelompok perlakuan. Kemudian dibulatkan menjadi 150x pemberian. Sehingga diperoleh volume akhir 450ml miras oplosan yang didalamnya terkandung 194,4ml etanol, 38,88ml metanol, dan 216,72ml aquades.

3.8.3 Pembuatan Miras Oplosan

Alat:

- Gelas ukur 500ml
- Botol tutup ulir 500ml
- Sduit
- Spatula/ pengaduk

Bahan:

- Etanol 99% 194,4ml
- Metanol 99% 38,88ml
- Aquades 216,72ml

Cara Pembuatan:

1. Ambil etanol 99% sebanyak 194,4 ml dan masukkan ke dalam botol tutup ulir.
2. Ambil metanol 99% sebanyak 38,88ml dan campurkan bersama etanol.
3. Ambil aquades sebanyak 216,72ml dan campurkan ke dalam metanol dan etanol.
4. Aduk.
5. Tutup rapat
6. Simpan di dalam suhu 4⁰C hingga siap digunakan.

3.8.4 Perlakuan pada Hewan Coba

Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok.

1. Kelompok K. Hewan coba tidak diberikan perlakuan apapun. Hanya diberikan pakan dan minum.
2. Kelompok P1. Hewan coba diberi minuman keras oplosan selama 5 hari, pada hari pertama, ketiga, dan kelima. Selanjutnya akan diterminasi pada hari keenam.

3. Kelompok P2. Hewan coba diberi minuman keras oplosan selama 11 hari, pada hari pertama, ketiga, kelima, ketujuh, kesembilan, dan kesebelas. Selanjutnya akan diterminasi pada hari keduabelas.
4. Kelompok P3. Hewan coba diberi minuman keras oplosan selama 17 hari, pada hari pertama, ketiga, kelima, ketujuh, kesembilan, kesebelas, ketigabelas, kelimabelas, dan ketujuhbelas. Selanjutnya akan diterminasi pada hari kedelapanbelas.

3.8.5 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Histopatologi Lambung

Sampel organ lambung mencit diambil dari larutan fiksatif (buffer formalin) diletakkan di dalam casset (*tissuetek*) dan di *washing* (dibersihkan dengan air mengalir) selama kurang lebih 2 jam agar formalin yang ada dalam organ lambung benar-benar bersih. Setelah dilakukan *washing* maka tahap selanjutnya adalah *dehydration* (etanol 70 %, 80 %, 96 % dan absolut). Selanjutnya tahap *clearing* untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan xylol. Setelah organ lambung dilakukan *clearing* maka tahap selanjutnya adalah *embedding* dimana organ lambung dibenamkan dalam parafin cair yang kemudian akan membentuk blok parafin. Langkah selanjutnya adalah pemotongan (*sectioning*) adalah proses pemotongan blok parafin dengan menggunakan mikrotom. Ketebalan pemotongan 5 mikrometer. Jaringan yang telah dipotong selanjutnya dimasukkan dalam waterbath dengan suhu sekitar 50°C yang kemudian diletakkan pada kaca obyek yang sudah diolesi mayer albumin dan dioven selama \pm 15 menit. Kemudian dikeringkan dalam suhu kamar dan preparat siap diwarnai dengan H.E. Organ lambung dipotong di pertengahan dari *curvatura minor* ke *curvatura mayor*.

Pewarnaan preparat di atas gelas objek direndam dalam xylol I 5 menit, dilanjutkan xylol II, III masing-masing 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing 5 menit, selanjutnya direndam dalam Harris Hematoxylin selama 15 menit. Celupkan ke dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam acid alkohol 1%

sebanyak 7-10 celupan, direndam dalam aquades 15 menit, dan dalam eosin selama 2 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 5 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan.

3.8.6 Pengamatan Preparat Histopatologi Lambung

Pengamatan preparat yang telah dibuat dilakukan melalui pengamatan sepuluh lapang pandang dengan perbesaran 400x dan diambil skor integritas mukosa tertinggi dari kesepuluh lapang pandang tersebut. Perubahan integritas mukosa ini diukur dengan menggunakan skor berdasarkan modifikasi Barthel Manja (Putri, 2010).

Tabel 3.1 Skor integritas epitel mukosa berdasarkan modifikasi Barthel Manja

Skor	Integritas Epitel Mukosa
0	Tidak ada perubahan patologis
1	Deskuamasi epitel mukosa
2	Erosi permukaan epitel mukosa (gap 1-10 sel epitel/lesi)
3	Ulserasi epitel mukosa (gap 1-10 sel epitel/lesi)

Pengamatan ini dilakukan oleh tiga orang observer dan dilakukan secara *double blind* oleh tiga orang pengamat ditambah seorang ahli. Sehingga diharapkan dapat mengurangi bias.

3.9 Analisis Data

Data yang akan dianalisis berupa skor perubahan histopatologis jaringan lambung. Perubahan histopatologis jaringan tersebut dinilai secara kualitatif lalu analisis data yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan uji *Mann Whitney*

untuk menentukan perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok. Perbedaan tiap kelompok dinilai bermakna atau signifikan apabila nilai $p < 0,05$.