

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Minuman Beralkohol

a. Definisi

Minuman beralkohol yaitu sebuah minuman yang mengandung senyawa *etil alcohol*, disamping zat lain yang pada kadar tertentu tidak berbahaya kesehatan. Produksi minuman beralkohol di dapatkan dari hasil fermentasi gula dengan menggunakan jenis khamir dan bakteri tertentu. Minuman beralkohol dibagi menjadi 2 yaitu, minuman beralkohol produk hasil fermentasi yang dikonsumsi langsung dan minuman beralkohol hasil destilasi. Pembuatan minuman beralkohol dapat menggunakan buah anggur, buah ceri, buah buni, beras, gandum, dan jenis biji-bijian lainnya (Anthony, 1992).

b. Golongan Minuman Beralkohol

Minuman beralkohol di bagi menjadi 3 bagian berdasarkan kandungan alkoholnya sebagai berikut:

1. Golongan A: minuman beralkohol yang memiliki kadar etanol sebesar 1%-5% (bir).
2. Golongan B: minuman beralkohol yang memiliki kadar etanol sebesar <5%-20% (anggur).
3. Golongan C: minuman beralkohol yang memiliki kadar etanol sebesar <20%-55% (whisky, rum dan vodka) (BPOM RI, 2016)

c. Batas Aman Minum Alkohol

Batas aman mengonsumsi minuman beralkohol yaitu tidak lebih dari 3 unit alkohol dalam sehari yang berarti 21 unit alkohol dalam satu minggu. Satu unit alkohol sendiri kira-kira sama dengan:

- 240-280 ml (satu gelas belimbing) bir dengan kadar alkohol 3%-4%.
- 50 ml sake atau wine dengan kadar alkohol 12%-20%.
- 25 ml wiski, vodka dan rum dengan kadar alkohol 40% (Anonim, 2018).

2. Jenis Uji Toksisitas

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia mengenai Pedoman Uji Toksisitas

Nonklinis secara *In vivo*, Uji toksisitas dibagi menjadi beberapa jenis yaitu:

a. Uji Toksisitas Akut Oral

Merupakan sebuah uji yang dilakukan untuk menemukan efek toksik yang terjadi dengan waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang dilakukan secara oral pada dosis tunggal, ataupun dosis berulang dalam kurun waktu waktu 24 jam. Dengan prinsip sediaan pada kadar dosis tertentu diberikan untuk masing-masing kelompok lalu dilakukan pengamatan adanya efek toksik dan kematian. Tujuan dari uji ini yaitu sebagai deteksi toksisitas intrinsik sebuah zat, menargetkan organ sasaran, kepekaan spesies, mendapatkan informasi bahaya selesai pemaparan sebuah zat secara akut, mendapatkan informasi awal agar bisa ditetapkan kadar dosis yang aman dan memperoleh nilai Lethal Dose 50% of Responses (LD₅₀) suatu bahan.

b. Uji Toksisitas Subkronis Oral

Merupakan salah satu uji untuk mendapatkan deteksi efek toksik yang timbul usai pemberian sediaan uji menggunakan dosis berulang yang dilakukan pemberian

secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan < 10% seluruh umur hewan. Dengan prinsip sediaan pada sebagian kadar dosis diberikan per hari untuk beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis setiap kelompok selama 28 atau 90 hari. Hewan yang mati selama periode pemberian akan dilakukan otopsi dan organ juga jaringannya dilihat secara makroskopik dan histopatologi selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi dan biokimia klinis. Tujuan dari uji ini yaitu agar mendapatkan informasi suatu efek toksik zat yang tidak terbaca pada uji toksisitas akut, informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL) dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tertentu.

c. Uji Toksisitas Kronis Oral

Merupakan sebuah uji untuk mendeteksi efek toksik yang timbul setelah diberikan sediaan uji secara berulang-ulang sampai seluruh umur hewan. Prinsip uji dari pengujian ini ialah sediaan uji dilakukan pemberian tidak kurang dari 12 bulan. Tujuan dari uji ini ialah untuk mendapatkan informasi profil efek toksik selesai pemberian sediaan uji

secara berulang dalam kurun waktu panjang, untuk mendapatkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL).

d. Uji Teratogenisitas

Adalah sebuah uji untuk mendapatkan informasi adanya abnormalitas fetus yang diakibatkan karena pemberian sediaan uji selama masa pembentukan organ fetus (masa organogenesis). Dengan prinsip pemberian sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis pada sekelompok hewan hamil selama minimal masa sensitif dari kehamilan, satu dosis persatu kelompok. Sehari sebelum waktunya melahirkan induk diberi bedah, uterus diambil dan dievaluasi pada fetusnya.

e. Uji Sensitisasi Kulit

Adalah sebuah uji untuk mengidentifikasi zat yang memiliki potensi penyebab sensitisasi kulit. Dengan asumsi bahwa hewan uji dilakukan induksi dengan dan tanpa *Freund's Complete Adjuvant* (FCA) lengkap dengan injeksi interdermal dan topikal untuk membentuk respon imun, kemudian dilakukan uji tantang (*challenge test*). Tingkat dan

keparahan reaksi kulit dilakukan penilaian menggunakan skala *Magnusson* dan *Kligman*.

f. Uji Iritasi Mata

Merupakan pengujian pada hewan uji (kelinci albino) untuk mendekripsi efek toksik yang terjadi setelah paparan sediaan uji terhadap organ mata. Prinsipnya sediaan uji dengan dosis tunggal dipaparkan pada salah satu mata hewan uji dan mata yang tidak dilakukan paparan dijadikan kelompok kontrol. Tujuan pengujian ini ialah agar diperoleh informasi tentang potensi bahaya yang mungkin terjadi bila produk uji bersentuhan dengan mata dan selaput lendir mata.

g. Uji Iritasi Akut Dermal

Merupakan suatu pengujian dengan hewan (kelinci albino) untuk deteksi efek toksik yang terjadi setelah paparan sediaan uji pada dermis selama 3 menit hingga 4 jam. Prinsipnya sediaan uji dipaparkan dengan dosis tunggal pada kulit hewan uji dan area kulit yang tidak diberi paparan berfungsi sebagai kontrol. Tujuan uji tersebut ialah untuk mengetahui adanya efek iritasi pada kulit dan menjadi evaluasi sifat suatu zat yang kontak dengan kulit.

h. Uji Iritasi Mukosa Vagina

Merupakan suatu tes untuk memeriksa sediaan tes yang bersentuhan langsung dengan jaringan vagina dan tidak dapat diuji dengan cara lain. Prinsipnya sediaan uji dilakukan pembuatan ekstrak pada larutan NaCl 0,9% atau minyak zaitun kemudian ekstrak dipaparkan ke lapisan mukosa vagina hewan uji. Diuji untuk sekitar 5 eksposur dengan interval 24 jam antara eksposur. Setelah pemaparan hewan uji dibunuh lalu dilakukan pengambilan jaringan mukos vagina untuk evaluasi histopatologis. Tujuan dari tes ini ialah sebagai bahan evaluasi keamanan alat kesehatan yang bersentuhan dengan mukosa vagina.

i. Uji Toksisitas Akut Dermal

Merupakan uji untuk mendeteksi efek toksik yang terjadi segera setelah paparan suatu sediaan uji selama aplikasi transdermal tunggal. Dengan aturan beberapa kelompok hewan uji yang digunakan satu jenis kelamin terpapar produk uji dengan berbagai tingkat dosis dan resikonya. Tujuan tes ini yaitu sebagai deteksi toksisitas

internal suatu zat, untuk mendapatkan informasi tentang bahayanya setelah terpapar, dan sebagainya.

j. Uji Toksisitas Subkronis Dermal

Uji untuk mendeteksi efek toksik yang terjadi setelah pemberian berulang sediaan uji melalui kulit pada hewan uji sampai sepersekian usia hewan, tetapi tidak lebih dari 10% dari total usia hewan. Dengan aturan pengujian sediaan dengan berbagai tingkat dosis harian yang berbeda untuk mengetahui adanya toksisitas. Hewan uji yang mati akan diotopsi kemudian organnya akan diambil dan jaringan akan divisualisasikan secara makroskopis dan histopatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan yang belum mati diotopsi setelah itu dilakukan pengamatan patologi makroskopik terhadap jaringan dan organ kemudian dilaksanakan pemeriksaan hematologik, biokimia klinis, dan histopatologis. Tujuan tes ini yaitu sebagai deteksi efek toksik zat yang belum terdeteksi, mendeteksi efek toksik setelah kontak kulit, mempelajari adanya efek kumulatif dan reversibel setelah paparan dengan produk uji transdermal yang dilakukan terulang selama periode waktu tertentu.

3. Hewan Uji

Hewan uji adalah hewan yang sengaja dibiakkan sebagai pendukung suatu praktik penelitian biologi. Hewan yang digunakan untuk uji coba adalah mencit, tikus, kelinci, marmut, anjing, kuda. Pada prinsipnya pemilihan hewan coba harus didasari pada kesamaan atau kedekatan ciri dan sifat hewan coba dengan manusia. Mencit merupakan salah satu hewan yang biasa sebagai hewan laboratorium. Mencit digunakan sebagai model laboratorium sekitar 40%. Mencit merupakan hewan yang termasuk kedalam famili Muridae. Mencit sering dijadikan sebagai hewan laboratorium dikarenakan mempunyai keunggulan seperti siklus hidup yang relatif pendek, jumlah keturunan yang banyak per kelahiran, variabilitas sifat yang tinggi, kemudahan penanganan produksi serta karakteristik reproduksinya sama dengan mamalia lain seperti sapi, kambing, domba, dan babi. Selain beberapa kelebihan tersebut mencit juga dapat hidup sampai umur 1-3 tahun (Agung, 2018).

Mencit memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Sub Filum : Vetebrata

Class : Mamalia

Sub Class : Theria

Ordo : Rodentia

Sub Ordo : Myomarpha

Family : Muridae

Sub Family : Murinae

Genus : Mus

Species : *Mus Musculus*

Mencit banyak dipergunakan sebagai objek penelitian klinis dikarenakan memiliki kemiripan struktur anatomi dan fisiologi dengan manusia. Namun selain kesamaan anatomi dan fisiologi, mencit juga merupakan kelompok mamalia yang telah diketahui karakter genetiknya, sehingga tidak mengherankan jika mencit dapat dijadikan sebagai hewan laboratorium (Agung, 2018).

4. Hepar

a. Anatomi Hepar

Hepar terletak pada posisi yang sangat penting dan menjadi organ terbesar yang berhubungan dengan perut.

Melalui vena hepatic semua suplemen dan cairan yang tertahan dari saluran pencernaan akan masuk ke hepar, namun ada beberapa pengecualian seperti item lemak yang masuk melalui vena darah limfe. Produk-produk yang diserap tadi akan mengalir melalui kapiler hepar atau yang disebut sinusoid (Eroschenko, 2015).

Pada manusia organ hepar memiliki lobules yang terlihat tiga sampai enam area porta. Lobules-lobulus hepatis tersebut dikelilingi oleh lapisan tipis jaringan ikat halus. Lobules hepasit sendiri tersusun atas sel-sel hepar yang disebut hepatosit yang berbaris menjadi lempeng-lempeng yang memiliki ketebalan satu sel dan dapat bercabang-cabang. Pada trauma abdomen hepar bisa saja mengalami perobekan dikarenakan tidak adanya jaringan penyambung pada hepar. Hepar memiliki sifat yang tidak umum dikarenakan memiliki pasokan darah ganda berasal dari darah arteri hepatica (sekitar 75% dari aliran darah total) (sekitar 25% dari vena porta hepatica yang mengandung zat gizi yang diabsorbsi dari trektus gastrointestinal (Eroschenko, 2015).

Substansi-substansi dari darah, menyekresi protein plasma (albumin dan faktor pembekuan darah lainnya), serta pembentukan empedu akan diabsorbsi oleh hepatosit. Hepatosit sendiri kaya akan mitokondria dan retikulum endoplasma halus (berfungsi untuk mensintesis lipid dan glikogen). Fungsi dari enzim yang terdapat pada retikulum endoplasma sendiri adalah mensintesis kolesterol dan garam empedu, pemecahan glikogen menjadi glukosa, mengkonversi asam lemak bebas menjadi trigliserida, selain itu juga mendetoksifikasi obat-obatan yang larut dalam lemak (Peckham, 2014).

Vesikel-vesikel yang terdapat pada hepatosit tadi melakukan berbagai fungsi oksidatifnya yang menyebabkan terbentuknya substansi beracun yaitu hidrogen peroksida, yang selanjutnya akan dikonversikan menjadi air dan oksigen. Salah satu fungsi penting dari hepatosit adalah untuk memetabolisme alkohol. Etanol yang diambil oleh sel kemudian dioksidasi menjadi asetaldehid oleh alkohol dehidrogenase di dalam sitoplasma yang selanjutnya akan dikonversikan menjadi asetat dalam mitokondria, kelebihan

hidrogen peroksida dapat merusak membran hepatosit (Peckham, 2014).

b. Fisiologi Hepar

Organ hepar pada manusia menjalankan ratusan fungsi, hepatosit sendiri melakukan peran tambahan daripada sel yang tersisa di dalam tubuh. Selain peran tersebut sel-sel hepar juga memiliki peran eksokrin dan juga endokrin dengan jalan mengeluarkan bahan masing-masing ke dalam sinusoid darah. Hepar menjalankan fungsi penting pada awal kehidupan selama embriogenesis. Pada janin itu sendiri hepar merupakan tempat pembentukan darah atau biasa disebut hemopesis. Fungsi hepar terbagi menjadi tiga bagian yaitu fungsi eksokrin, fungsi endokrin, dan fungsi fagositik (Eroschenko, 2015).

1) Fungsi Eksokrin

Pembentukan dan pengeluaran empedu sekitar 500 sampai 1200 ml/hari merupakan kemampuan eksokrin yang sebenarnya dari hepatosit. Hormon regulatorik pencernaan merupakan pengendali yang mengeluarkan empedu dari hepar dan kantung empedu. Garam empedu

di dalam empedu mengemulsikan lemak yang mungkin telah dicerna sebagian di usus halus (duodenum), namun garam empedu tidak mencerna lemak tersebut. Emulsifikasi tersebut menguraikan senyawa lemak menjadi molekul-molekul yang lebih kecil sehingga pencernaan lemak oleh lipase pankreas lebih efisien.

Bilirubin juga diekskresikan di dalam hepatosit, dengan cara penyerapan bilirubin ke dalam hepatosit darah dan di ekskresikan ke dalam empedu. Peranan hepatosit juga penting bagi sistem imunitas. Antibodi yang di buat oleh sel plasma di lamina propria pencernaan di konsumsi dari darah oleh hepatosit dan dipindahkan ke kanalikulus bilier dan empedu. Dari situ, antibodi akan memasuki lamen pencernaan dimana mereka mengontrol tanaman hijau bakteri gastrointestinal (Eroschenko, 2015).

2) Fungsi Endokrin

Hepatosit merupakan sel endokrin yang langsung mengeluarkan bahan-bahan ke dalam darah. Susunan daripada hepatosit disuatu lobules hati sangat memungkinkan sel tersebut menyerap, memetabolisme,

memekatkan, dan menyimpan berbagai produk dari darah. Kemudian hepatosit akan melepaskan banyak item metabolismik atau emisi kembali kedalam sistem sirkulasi saat darah mengalir melalui sinusoid. Cakupan dari fungsi endokrin hepatosit diantaranya sintesis sebagian besar protein plasma, termasuk albumin, lipoprotein, glikoprotein, serta faktor pembekuan darah protrombin dan fibrinogen. Selain itu sel-sel pada hepar juga menyimpan lemak, berbagai vitamin dan karbohidrat sebagai glikogen. Glikogen yang tersimpan di hepar akan di ubah menjadi glukosa dan dilepaskan ke dalam aliran darah saat sel tubuh memerlukan glukosa (Eroschenko, 2015).

3) Fungsi Fagositik

Proses detoksifikasi darah dari obat-obatan dan zat berbahaya saat darah bergerak melalui sinusoid oleh hepatosit. Sel Kupffer dalam sinusoid merupakan fagosit hepar yang spesifik di dapat dari monosit darah. Keberadaan sel ini di dapat diseluruh sinusoid serta memfagosit dan menyaring bahan berbentuk bakteri,

partikel, debris sel, dan eritrosit yang telah rusak dan mengalir melewati sinusoid (Eroschenko, 2015).

c. Hepatotoksisitas

Hepatotoksisitas merupakan istilah yang biasanya digunakan untuk menggambarkan suatu kerusakan hepar. Menurut Santosa (dalam Utomo *et al.*, 2012) jika senyawa berbahaya masuk terlalu banyak akan menjadi racun bagi hepar sehingga akan menyebabkan penurunan efisiensi jaringan hepar, yang nantinya akan terjadi pembusukan yang akan merusak organ hepar. Degenerasi sendiri dibedakan menjadi degenerasi parenkim dan hidropik. Degenerasi parenkim merupakan degenerasi yang ringan dan bersifat reversible karena hanya terjadi di mitokondria dan retikulum endoplasma karena masalah oksidatif. Sedangkan degenerasi hidropik memiliki tingkat bahaya yang lebih ekstrim. Degenerasi hidropik juga memiliki sifat yang reversible namun ada kemungkinan menjadi bersifat ireversibel. Robeknya film plasma dan perubahan pada inti sehingga ponsel tidak berfungsi atau menjadi nekrotik disebabkan karena kerusakan yang dialami oleh sel-sel (Utomo, 2012).

Tubuh yang mengalami iritasi akan mengeluarkan berbagai macam campuran biokimia. Sitokin merupakan salah satu senyawa yang dikirim dan berperan dalam menjaga homeostasis karena iritasi. Selama proses iritasi pelepasan sitokin ini akan terbentuk, hal tersebut menghasilkan reaksi api yang meluas. Dalam keadaan panas yang terus-menerus ini mengakibatkan protein pertahanan yang dibuat oleh iritasi (HSP) menjadi liar, sehingga terjadi kerusakan pada beberapa jenis protein sel, peristiwa apoptosis dan peningkatan pembusukan jaringan (Utomo *et al.*, 2012).

d. Histopatologi Hepar

Histopatologi merupakan cabang ilmupengetahuan yang mempelajari tentang jaringan dan hubungannya dengan infeksi. Histologi berasal dari kata Yunani histos yang memiliki arti jaringan dan logos yang memiliki arti ilmu. Histologi menggambarkan penyelidikan jaringan tubuh dan bagaimana jaringan tersebut disusun untuk membentuk organ, termasuk seluruh bagian ilmu jaringan, yang berkonsentrasi pada jaringan membentuk tubuh, ilmu

jaringan dan sel terkonsentrasi pada menit dan logika sintetik. teknik (Rupang, 2018).

Hepar merupakan organ yang beresiko terhadap dampak dari suatu zat. Beberapa penyakit yang dialami oleh hepar dapat menurunkan fungsinya. Kerusakan pada hepar digambarkan melewati sel. Pengeluaran sel pada hepar dimulai dari degenerasi sel di dalam hepar. Degenerasi sel sendiri memiliki arti penyesuaian struktur sel biasa sebelum sel lewat. Spector, (diacu dalam Susanti 2015). Kerusakan-kerusakan pada hati sendiri meliputi:

1) Degenerasi Hidropik

Penggambaran tahap ini adalah dengan adanya vakuola yang berisi zat seperti cairan yang berada didalam sel. Adanya vakuola tersebut menjadikan sitoplasma tidak terisi penuh. Terdapat pembesaran di beberapa bagian sel, sedangkan sinusoid hepar tampak lebih kecil dari biasanya. Degenerasi ini bersifat reversible. Himawan (dalam Susanti 2015).

2) Degenerasi Parenkimatosa

Penggambaran degenerasi perenkimatosa adalah dengan pembesaran dan keteduhan pada sitoplasma. Kerusakan ini menyebabkan oksidasi sel yang terganggu sehingga sel yang rusak tidak dapat menghapus air, dan pada akhirnya akan banyak air yang terkumpul di ponsel.

3) Degenerasi Lemak

Gambaran degenerasi lemak secara histopatologi sel hepatosit pada degenerasi ini menunjukkan bahwa sel hepatosit memiliki kandungan lemak yang tinggi nampak sebagai vasikel kosong yang berbentuk bulat. Di samping itu, ditemukan sinusoid yang tampak melebar.

4) Nekrosis

Kematian sel-sel hepar atau jaringan hati di antara sel-sel yang hidup disebut juga dengan nekrosis. Fase ini dihubungkan dengan pinggiran perubahan atom. Perkembangannya dari fase ini adalah piknosis, karioresis dan keriolisis. Terjadinya pemusnahan inti dengan meninggalkan sebagian terbesar pada inti disebut dengan karikokoreksi. Selama kariolisis inti hilang (lisis) dengan

tujuan bahwa pada persepsi itu muncul sebagai sel yang tidak terisi (Susanti, 2015).

Vena membawa sebanyak 80% suplai darah ke hepar yang berasal dari sistem gastrointestinal, sehingga zat berbahaya yang dikonsumsi oleh saluran pencernaan akan dibawa ke hepar. Patologi hepar terkait erat pada konsumsi makanan dan minuman oleh seseorang. Perubahan struktur jaringan pada hepar bisa dipengaruhi oleh masuknya sejumlah cairan dan jenis campuran tertentu kedalam hepar. Proses masuknya cairan tersebut akan melalui asimilasi, penyerapan, pencernaan, dan pengeluaran dari dalam tubuh (Wicaksono *et al.*, 2015).

Hepar adalah bagian dari organ pencernaan yang peka terhadap zat berbahaya dan beracun. Kemampuan hepar dalam mendetoksifikasi yaitu setelah zat beracun terperangkap di saluran pencernaan kecil kemudian akan masuk ke aliran darah, mereka akan melalui proses detoksifikasi untuk membentuk bahan yang tidak berbahaya sehingga mudah dikeluarkan (Tatukude *et al.*, 2014). Sel-sel hepar yang terus-menerus terpapar zat beracun akan menyebabkan sel lewat. Rusaknya sel hepar seperti degenerasi hidropik dan degenerasi lemak akan membuat kerja

hepar menjadi berat dikarenakan pada hepar dengan degenerasi hidropik terdapat banyak cairan di dalam sel hepar (Kurniawan *et al.*, 2014).

5. Pembuatan Preparat Histopatologi

a. Tahapan Pembuatan Preparat

Peckham (2014), memberikan pernyataan bahwa untuk berkonsentrasi pada konstruksi sel dan asosiasinya dalam jaringan, jaringan tersebut harus dilakukan perbaikan dan pemotongan, diwarnai dengan pewarna, kemudian diamati dengan lensa pembesar.

Menurut Peckham (2014) Pembuatan preparat dapat dijalankan menggunakan prosedur dibawah ini:

1) Fiksasi

Larutan yang sering digunakan dalam proses fiksasi adalah formaldehida. Kerja dari larutan formaldehida sendiri adalah dengan mengikat protein dan struktur tertentu bergabung secara silang, kemudian protein yang berbeda akan di denaturasi, namun tidak berkomunikasi dengan lipid. Adapun dampak umum dari proses ini yaitu untuk memperkuat jaringan dan

menonaktifkan protein dan mencegah kerusakan jaringan. Fiksasi sendiri memiliki kecepatan 1mm/jam agar dapat masuk ke dalam organ, lamanya waktu tersebut tergantung pada organ itu sendiri. Proses fiksasi sendiri membutuhkan waktu ± selama 24 jam. Organ yang sudah diambil harus segera dilakukan fiksasi agar struktur dari organ tersebut tidak berubah atau rusak. Penundaan pemotongan makros tidak mempengaruhi organ itu sendiri selama organ tersebut sudah terfiksasi.

2) Pemotongan Makroskopis

Jaringan yang sudah melewati proses fiksasi kemudian akan dilakukan pemotongan secara makros. Pemotongan makros dilakukan dengan memotong specimen dengan ketebalan 0,5-1 cm. jaringan yang sudah melewati pemotongan mikros kemudian dimasukkan kedalam kasset. Sisa dari specimen disimpan pada botol yang bertutup rapat berisi NBF 10%.

3) Dehidrasi

Fungsi dari dehidrasi sendiri adalah untuk menghilangkan/ penarikan kadar air didalam jaringan

dengan cara dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi. Pada dehidrasi larutan yang baik digunakan yaitu alkohol dengan konsentrasi 70% sampai 100%. Penggunaan aseton sering dilakukan pada dehidrasi dengan cara manual, namun cara ini kurang baik karena jaringan yang berhubungan langsung dengan aseton konsentrasi tinggi akan menyebabkan jaringan tersebut melengkung. Selain penggunaan alkohol dapat juga menggunakan metil alkohol, isopropil alkohol, etilen glikon, monoetil eter, dll. Untuk pembuatan potongan-potongan, maka jaringan harus direndam dalam paraffin (lilin). Paraffin (lilin) sendiri tidak dapat larut atau menyatu dengan air, sehingga dilakukannya proses dehidrasi agar air yang terkandung dalam jaringan hilang dan digantikan dengan medium dimana lilin dapat larut didalamnya. Air yang ada di dalam jaringan sebelumnya akan diganti menggunakan alkohol. Penempatan jaringan didalam alkohol bertingkat sendiri memiliki tujuan agar meminimalisir adanya kerusakan jaringan.

4) *Clearing* (penjernihan)

Fungsi dari proses clearing adalah untuk mengekstraksi kandungan alkohol yang berada didalam jaringan, memberikan warna bening pada jaringan dan juga bertindak sebagai zat perantara infiltrasi paraffin. Bahan yang biasanya digunakan dalam proses clearing adalah xylol, namun bisa juga menggunakan benzol, bensin, toloul, kloroform, dll. Potongan akan ditempatkan dalam pelarut organik seperti xylene atau toluene untuk menggantikan alkohol. Pelarut seperti xylol sendiri disebut sebagai bahan penjernih dikarenakan jaringan seringkali terlihat nampak jelas jika direndam dalam larutan tersebut. Akhirnya jaringan diimpregnasi menggunakan lilin panas yang larut dalam jenis pelarut organik ini.

5) *Embedding* (pengeblokan)

Setelah *processing* selesai, jaringan kemudian akan dimasukan kedalam cetakan blok yang sudah diisi dengan paraffin cair. Setelah \pm 20 menit dan paraffin sudah mengeras, kemudian lepas cetakan dan gantikan dengan etiket/nomor permanen. Jaringan yang sudah keras dapat

melalui proses pemotongan menjadi pita-pita jaringan yang akan digunakan sebagai preparat. Untuk beberapa alasan ekonomi dapat digunakan paraffin teknis yang dicampur menggunakan embalau 9:1 dan dipanaskan pada suatu ruang khusus hingga mendidih dan mencair seluruhnya kemudian disimpan dalam oven.

6) *Sectioning* (pemotongan)

Proses pemotongan dilakukan ketika jaringan sudah dimasukan kedalam paraffin dan sudah mengeras. Alat yang digunakan pada proses pemotongan ini bernama mikrotom. Pemotongan jaringan dilakukan dengan ketebalan sekitar 2 mikron, hasil dari pemotongan ini akan berupa lembaran jaringan yang kemudian akan digunakan sebagai preparat.

7) *Mounting* (perekatan)

Proses *mounting* sendiri memiliki fungsi sebagai pemberi warna yang cerah, pelindung/pengawet dari bakteri ataupun mikroba. Larutan yang digunakan pada proses ini bersifat permanen atau base mount. Zat yang sering digunakan pada proses ini adalah entelan, namun

ada beberapa zat lainnya seperti *Canada balsam*, hipermount, EZ-mount, dsb.

8) *Staining* (pemulasan)

Pemulasan dilakukan untuk melihat secara detail dari komponen jaringan. Namun pewarna yang digunakan sendiri memiliki bahan dasar air, oleh karenanya lilin harus digantikan dengan air melalui proses rehidrasi agar zat warna mampu menembus kedalam jaringan. Pewarnaan yang sering digunakan yaitu Hematoksilin Eosin, namun sejumlah pewarna lain juga dapat digunakan.

b. Pewarnaan Jaringan

Cat yang umum dipakai pada histopatologi adalah Hematoksilin-Eosin (HE). Hematoksilin berasal dari pohon logwood (*Hematokilum campechianum*), dan dimanfaatkan sebagai pewarna pada struktur teroksidasinya (hematin). Hematoksilin merupakan pewarna larut yang mengikat desain asam dalam sel sehingga menjadi warna biru keunguan. Eosin merupakan yang bersifat asam yang memiliki muatan negatif. Eosin mengikat desain basa dalam

sel sehingga warna yang dihasilkan menjadi merah atau merah muda. Sel-sel dalam jaringan yang terpulas dengan HE akan menjadi berwarna merah muda, dengan nukleus berwarna ungu (Peckham, 2014). Adapun beberapa tahapan yang dilakukan pada pewarnaan HE yaitu deparafinasi, rehidrasi, air mengalir, hematoksilin, eosin, dehidrasi, dan clearing.

1) Deparafinasi

Memiliki fungsi untuk melarutkan atau melepaskan paraffin yang terdapat dalam preparat.

2) Rehidrasi

Memiliki fungsi yang efektif untuk mengeluarkan xylol dan kadar air dari dalam jaringan secara bertahap mulai dari konsentrasi 100% sampai 70%.

3) Air mengalir

Memiliki fungsi untuk mengeluarkan sisa cat ataupun cairan yang terbawa dari proses sebelumnya.

4) Hematoksilin

Berfungsi sebagai pemberi warna biru pada sitoplasma.

5) Eosin

Memiliki fungsi untuk memberikan warna merah pada sitoplasma, jaringan ikat, dan lainnya.

6) Dehidrasi

Memiliki fungsi untuk menghilangkan air yang terkandung oleh preparat mulai dari alkohol 70% sampai dengan 100%.

7) *Clearing*

Memiliki fungsi untuk mengeluarkan sisa alkohol yang terbawa oleh jaringan dan untuk memberikan warna bening pada jaringan.

Minuman beralkohol merupakan minuman yang memiliki kandungan senyawa etil alkohol dan senyawa lainnya. Minuman beralkohol dibagi menjadi 2 yaitu, minuman beralkohol produk hasil fermentasi yang dikonsumsi langsung dan minuman beralkohol hasil destilasi. terdapat tiga golongan minuman beralkohol yaitu golongan A, B dan C (BPOM, 2014)

Mencit dijadikan sebagai hewan uji laboraturium dengan alasan karena memiliki karakteristik produksi dan

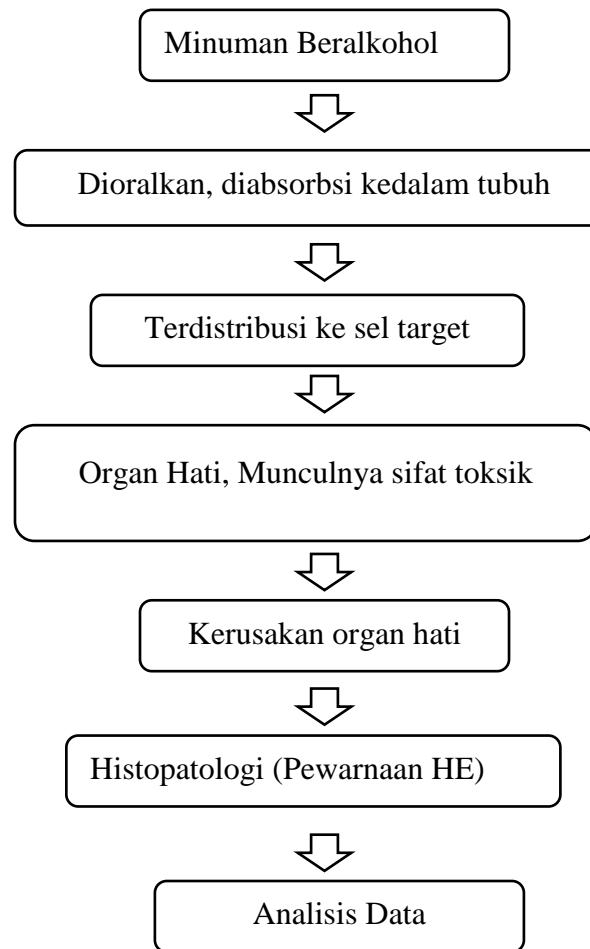
reproduksinya yang mirip dengan hewan mamalia lainnya seperti sapi, domba, babi, dan kambing. Mencit tergolong dalam famili maridae dan memiliki genus *Mus*, mencit sendiri sering disebut sebagai *Mus musculus*. Mencit liar ataupun mencit rumahan merupakan satu spesies dengan mencit laboraturim.

Uji yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu uji toksisitas akut oral karena dilakukan dalam jangka waktu yang singkat dan pemberian dosis oral berulang pada hewan uji mencit (*Mus musculus*). Pengujian toksisitas ini memiliki tujuan sebagai deteksi efek toksik minuman beralkohol setelah pemberian dengan dosis 10 ml/kgBB diberikan selama 27 hari dan 34 hari pada hewan uji. Selain itu pengujian ini juga ditujukan agar dapat menjelaskan bahayanya jika manusia mengonsumsi alkohol dengan kurun waktu lama dan kadar yang berlebih.

Efek toksisitas bagi makhluk hidup terbagi menjadi beberapa tahap. Tahap awal adalah masuknya zat racun dan kemudian akan mengalami absorpsi ke dalam tubuh, yang nantinya akan terdistribusi ke tempat sel target. Setelah

sampai pada tempat aksi kemudian akan terjadi interaksi antara racun dengan komponen penyusun sel target pada tempat aksi seperti organ hati. selanjutnya akan memunculkan sifat toksik dengan wujud dan sifat tertentu (Donatus, 2005).

B. Kerangka Pikir



Gambar 2.1. Kerangka Pikir

C. Hipotesis

Adanya kerusakan yang ditimbulkan akibat pemberian minuman beralkohol terhadap hepar mencit (*Mus musculus*) yang dilihat secara mikroskopis. Gambaran kerusakan histopatologi hepar mencit yang ditimbulkan oleh minuman beralkohol dapat berupa perlemakan hepar.