

# Pemberian alkohol peroral secara kronis menurunkan kepadatan sel granula cerebellum pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa

Hendry Halim<sup>1</sup>, Fakhurrrazy<sup>#2</sup>, Yuliasuti<sup>3</sup>,  
Dwi Cahyani Ratna Sari<sup>4</sup>, Rina Susilowati<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa S1 Pendidikan Dokter, <sup>2</sup>Mahasiswa S2 Ilmu Kedokteran Dasar,

<sup>3</sup>Bagian Farmakologi dan Toksikologi, <sup>4</sup>Bagian Anatomi, Embriologi dan Anthropologi,

<sup>5</sup>Bagian Histologi dan Biologi Sel,

Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada,  
Yogyakarta

## ABSTRACT

**Background:** Chronic exposure of alcohol induces massive degeneration of cells in the rat cerebellar cortex.

**Objective:** This study was performed to know the effect of chronic alcohol exposure on granule cells density in the cerebellar cortex. **Materials and Methods:** Twenty 10-12 weeks old-male-Wistar<sup>1</sup> rats were divided randomly into four groups. Group I, the control group, was given aquadest 2 mL/day. Each rats of group II, III, and IV was given alcohol 3%, 12%, and 20% 2 mL/day, respectively. After 30 days, rats were deeply anesthetized with chloralhydrate 3,5 % before transcardial perfusion with fixative was conducted. Brains were then removed, processed for paraffin embedding and toluidine blue staining. The average density of granule cells was counted in six random 10.000  $\mu\text{m}^2$  regions in the granule cell layer of anterior, posterior and flocculonodular lobes of midline section of cerebellum. **Results:** The number of cerebellar granule cell per 10.000  $\text{mm}^2$  were  $354,1 \pm 14,1$ ;  $331,9 \pm 20,9$ ;  $297,7 \pm 10,2$ ;  $279,5 \pm 9,3$  for group I, II, III, and IV respectively ( $F = 27,1$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0,05$ ). **Conclusion:** Chronic alcohol exposure decreased the density of cerebellar granule cells in adult male rat.

**Key words:** Alcohol, chronic exposure, cerebellum, granule cells, *Rattus norvegicus*

## PENDAHULUAN

Alkohol merupakan zat psikotropika dengan penggunaan yang paling luas. Alkohol selama ini masih diyakini sebagai suatu minuman yang tidak berbahaya dan menimbulkan efek yang menyenangkan serta dianggap sebagai bagian dari gaya hidup yang terkait dengan budaya setempat. Konsumsi yang tidak terkontrol telah menimbulkan masalah pada masyarakat. Berbagai penelitian di Amerika menunjukkan bahwa berbagai tindakan kriminal yang terjadi, sebagian besar terbukti berkaitan dengan konsumsi alkohol yang berlebihan. Alkohol juga bertanggung jawab atas kematian 1400 kematian

remaja dan 500.000 kecelakaan tanpa disengaja. Di negara tersebut juga tercatat kurang lebih 500 juta galon alkohol murni dikonsumsi setiap tahunnya. Masalah lain yang timbul akibat penyalahgunaan alkohol adalah masalah kesehatan, kehilangan produktivitas, dan masalah lainnya yang menimbulkan kerugian mencapai 300 milyar US\$<sup>1</sup>.

Alkohol adalah salah satu jenis alkohol alifatik yang larut air. Senyawa ini sering juga disebut etil alkohol atau alkohol saja. Alkohol dibuat dari hasil fermentasi, berupa cairan jernih tak berwarna dan rasanya pahit<sup>2</sup>. Molekul alkohol sangat kecil dan dapat dengan mudah larut dalam lipid dan air. Oleh

karena sifat ini, alkohol memasuki aliran darah dengan mudah dan juga dapat melewati sawar darah otak (*blood brain barrier*) dengan bebas<sup>3</sup>.

Efek akut konsumsi alkohol berhubungan dengan penekanan terhadap Sistem Saraf Pusat (SSP). Setelah memasuki sirkulasi, alkohol segera berefek pada susunan saraf, terutama menekan kerja otak. Intensitas penekanan ini bergantung pada jumlah alkohol dalam darah<sup>4</sup>. Sedangkan konsumsi kronis alkohol berkaitan erat dengan gangguan multi organ yang terjadi melalui berbagai mekanisme. Gangguan yang sering timbul pada penggunaan alkohol dalam jangka waktu lama meliputi ulserasi traktus gastrointestinal, pancreatitis, neuropati perifer, keganasan, malabsorpsi, hepatitis alkoholik, *fatty liver*, hipertensi, *cerebrovascular accidents*, penyakit jantung koroner dan yang paling sering menyebabkan kematian adalah komplikasi akibat sirosis hepatis yang 15 – 20 % terjadi pada orang-orang alkoholik kronis<sup>4</sup>.

Atrofi cerebellum merupakan salah satu dari manifestasi neurologik yang utama yang berhubungan dengan penggunaan alkohol secara kronis. Secara neuropatologik, paparan alkohol menyebabkan lesi khas, yaitu penurunan volume lapisan granular dan molekular serta penipisan korteks<sup>5</sup>. Sel granula merupakan sejumlah besar sel yang menyusun korteks cerebellum pada lapisan granular. Berbagai penelitian menunjukkan hubungan positif antara konsumsi alkohol secara kronis terhadap degenerasi korteks cerebellum. Sel granula dan neuron pada lapisan molekular diyakini sebagai bagian cerebellum yang paling awal terpengaruh terutama terlihat dalam pengurangan ketebalan korteks<sup>6</sup>.

## SUBJEK DAN CARA PENELITIAN

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) berumur 10-12 minggu dengan berat badan 180-250 mg. Tikus diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta dan diberi makan pakan ayam pedaging merk Comfeed produksi PT. Japfa Comfeed Indonesia.

Pada awal penelitian, hewan coba dibiasakan dalam kandang selama satu minggu.

Tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok I diberi aquades, kelompok II diberi alkohol

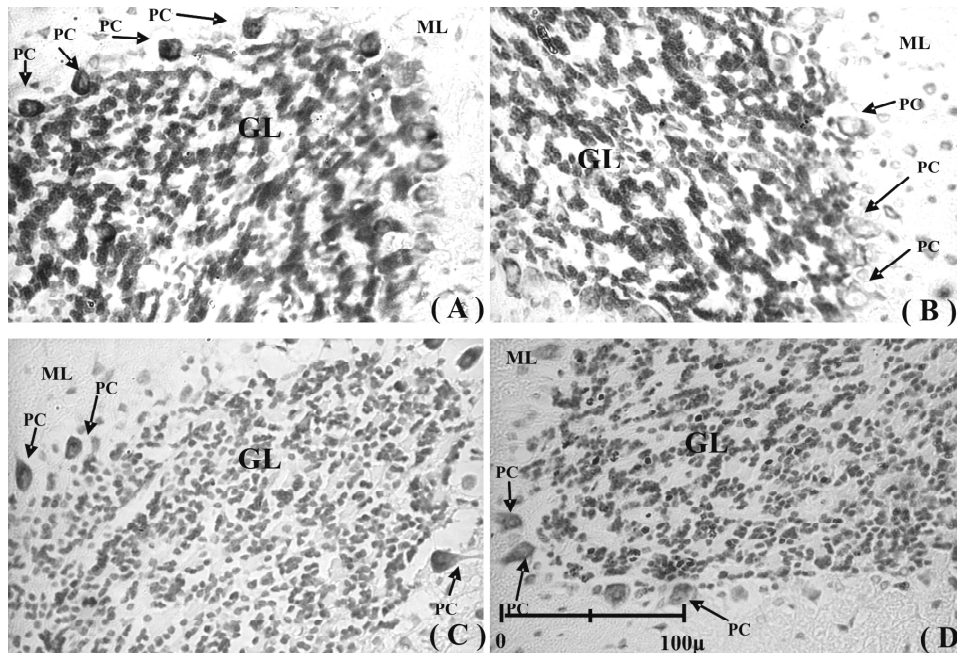
3%, kelompok III diberi alkohol 12%, kelompok IV diberi alkohol 20% masing-masing sebanyak 2 ml per hari selama 30 hari. Berat badan hewan coba ditimbang setiap 4 hari selama 4 minggu perlakuan. Setelah 30 hari hewan coba dianestesi dengan *chloral hydrate* 3,5 % sebanyak 1 ml/100 gr BB. Setelah itu dilakukan pembedahan di linea alba abdomen ke arah lateral sampai processus xiphoideus sehingga terlihat jantung tikus. Perfusi jaringan dilakukan melalui ventrikel kiri dengan *Phosphate-Buffered Saline* (PBS) dilanjutkan dengan fiksatif yaitu 3,7 % paraformaldehide dalam PBS selama 20 menit. Setelah selesai, tengkorak dibuka, otak dikeluarkan, dan cerebellum dibagi 2 pada garis mid-sagital. Cerebellum bagian kiri kemudian dibuat blok parafin sebelum dilakukan pengirisan setebal 6  $\mu\text{m}$  pada daerah mid-sagital<sup>7</sup>. Irisan kemudian dilekatkan pada gelas objek untuk kemudian diwarnai dengan pewarnaan *Toluidin Blue*.

Sel granula cerebellum diamati dengan mikroskop yang terhubung dengan layar monitor. Lokasi penghitungan sel granula diadaptasi dari metode menurut Doughty *et al.*<sup>8</sup> yang dilakukan pada aspek posterior, mid dan anterior cerebellum. Pada percobaan ini, lokasi lapisan granula yang diamati meliputi aspek anterior, posterior, dan bagian flocculonodular. Jumlah sel granula dihitung pada 6 area masing-masing seluas 10.000  $\mu\text{m}^2$  dan kemudian dihitung rerata untuk mendapatkan kepadatan sel granula. Data dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) satu jalan dilanjutkan dengan uji *LSD multi comparison*. Untuk menentukan hubungan korelasi antara pemberian alkohol dengan kadar berbeda-beda terhadap kepadatan sel granula, dilakukan analisis *Correlation Bivariate*.

## HASIL PENELITIAN

Gambaran histologis sel granula pada cerebellum dapat dilihat pada Gambar 1. Secara sekilas tampak pengurangan jumlah sel granula yang ditandai dengan pengurangan kepadatan dan besarnya sel.

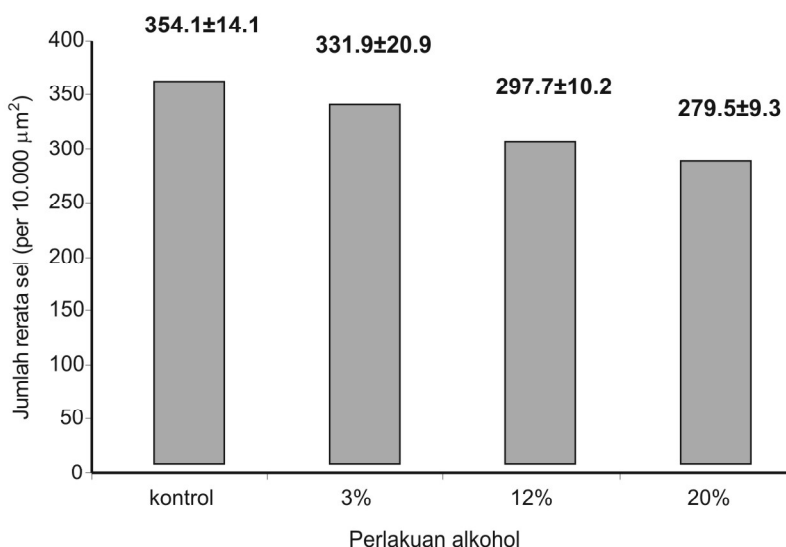
Pada penghitungan sel setiap 10.000  $\mu\text{m}^2$ , didapatkan rerata jumlah sel granula kelompok kontrol adalah 354,1 $\pm$ 14,1 sel, sedangkan rerata jumlah sel granula pada kelompok perlakuan 3%, 12%, dan 20% berturut-turut adalah 331,9 $\pm$ 20,9, 297,7 $\pm$ 10,2 dan 279,5 $\pm$ 9,3 sel (Gambar 2). Untuk kelompok yang diberi alkohol 3%, 12%, dan 20%, pengurangan jumlah sel terhadap kelompok kontrol berturut-turut adalah 6,27%, 15,94%, dan 21%.



**Gambar 1** Sel granula cerebellum pada kelompok kontrol (A), perlakuan 3% (B), 12% (C), dan 20% (D). (GL = Granula layer, PC = Purkinje cell, ML = Molecular layer); pengecatan Toluidin Blue. Sel granula cerebellum dihitung pada irisan paling medial yang mendekati daerah mid sagital seperti yang disebutkan pada dalam cara penelitian. Pada gambar, sel granula diambil dari bagian lobus semilunaris superior (gyrus VII). Sekilas tampak adanya pengurangan jumlah sel granula pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Ukuran sel dapat diamati perubahannya, demikian juga dengan sel purkinje yang berkurang sesuai peningkatan kadar alkohol. Hasil pengamatan sel granula dinyatakan dalam jumlah sel setiap 10.000 mm<sup>2</sup> pada lobus dan tempat yang sama. Hasil analisa statistik dengan ANOVA satu jalan menunjukkan efek pengurangan sel yang signifikan pada peningkatan kadar alkohol ( $F = 27,1$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0,05$ ), \*  $p < 0,05$  pada perbandingan antar grup perlakuan (post hoc comparison), kecuali pada kelompok perlakuan 12 % dan 30 % ( $p > 0,05$ ).

Pengujian statistik dengan ANOVA satu jalan terhadap jumlah sel granula menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Hasil uji lanjut statistik dengan menggunakan uji *multiple comparison*, didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan yang satu dengan yang lain terkecuali pada kelompok perlakuan 12% dan 20%. Sedangkan hasil analisis korelasi menunjukkan

angka korelasi -0,89, yang menunjukkan adanya korelasi terbalik antara peningkatan jumlah kadar alkohol terhadap jumlah sel granula cerebellum. Sehingga pemberian alkohol secara kronis sebagai perlakuan tunggal memiliki pengaruh hingga 89% dalam menyebabkan berkurangnya jumlah sel dan pengurangan jumlah sel ini terjadi sesuai dengan peningkatan kadar alkohol.



**Gambar 2** Diagram perbandingan jumlah rerata sel granula antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan alkohol 3%, 12%, dan 20%. Sel granula cerebellum dihitung pada irisan paling medial yang mendekati daerah mid sagital seperti yang disebutkan pada dalam cara penelitian. Hasil perhitungan rerata sel granula pada kelompok kontrol, perlakuan alkohol 3%, 12%, dan 20% menunjukkan hasil berturut-turut 354,1, 331,9, 297,7, dan 279,5 sel per 10.000  $\text{mm}^2$ . Pengurangan jumlah sel terjadi sebesar 6,27%, 15,94%, dan 21% pada kelompok perlakuan 3%, 12%, dan 20% berturut-turut dibandingkan kelompok kontrol. Hasil analisa statistik dengan ANOVA satu jalan menunjukkan efek pengurangan sel yang signifikan pada peningkatan kadar alkohol ( $F = 27,1$ ;  $df = 3$ ;  $p < 0,05$ ),  $p < 0,05$  pada perbandingan antar grup perlakuan (*post hoc comparison*), kecuali pada kelompok perlakuan 12 % dan 30 % ( $p > 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pemberian alkohol selama 30 hari, kepadatan sel granula cerebellum mengalami penurunan yang signifikan dibanding kelompok kontrol. Salah satu mekanisme kerusakan sel granula cerebellum yang diyakini berkaitan dengan toksisitas alkohol adalah mekanisme peningkatan fluiditas membran<sup>9</sup>. Peningkatan fluiditas terjadi karena alkohol mengikat hidrogen dan senyawa alkil lain pada membran yang menyebabkan terganggunya *lipid phase transition temperature*, yaitu suhu yang dapat menyebabkan membran lipid berubah dari cair (*liquid state*) menjadi gel (*solid state*). Hal ini menyebabkan membran lipid berubah menjadi lebih cair, akibatnya pergerakan dan interaksi protein membran meningkat. Gangguan fluiditas membran mengakibatkan influks berlebihan sejumlah ion yang pada keadaan normal dipertahankan dalam keseimbangan yang dinamis. Masuknya ion  $\text{Ca}^{2+}$  secara berlebihan ke dalam sel memacu kerusakan membran mitokondria. Kerusakan ini dikarenakan  $\text{Ca}^{2+}$  yang berlebihan menyebabkan

gangguan potensial listrik *trans-membran* dan  $\text{Ca}^{2+}$  *overload* menyebabkan terbukanya saluran nonselektif berukuran besar yang disebut *Permeable Transition Pore (PT-pore)*. Saluran ini memungkinkan molekul yang berukuran sampai 1,5 kD untuk lewat. Melalui saluran ini pula, *Cytochrom C* (Cyt C) dapat keluar dan mengaktifasi jalur apoptosis. Di lain pihak, saluran yang terbuka juga memungkinkan masuknya materi ekstra mitokondrial sehingga terjadi *volume overload*. Ruptur membran dapat terjadi setelahnya dan berbagai protein dalam mitokondria akan terlepas ke sitosol, termasuk Cyt C. Setelah Cyt C terlepas, bersama  $\text{Ca}^{2+}$  dalam sel, ia akan mengaktifasi caspase dan pengaktifan jalur apoptosis selanjutnya akan terjadi<sup>10</sup>.

Mekanisme kedua didasarkan pada bukti bahwa alkohol menghambat reseptor glutamat (NMDA) sehingga fungsi reseptor ini terganggu. Pada kenyataannya interaksi glutamat dengan reseptor NMDA ini penting sebagai jalur sintesis senyawa neurotrophin yang dibutuhkan untuk memelihara kehidupan sel. Interaksi glutamat dengan reseptor sel dilaporkan meningkatkan proses transkripsi dan translasi protein khusus yang dinamakan neurotrophin.

Salah satu neurotropin yang berkaitan erat dalam proteksi sel neuron adalah *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF). Senyawa ini terbukti menyebabkan serangkaian reaksi yang berakibat pada fosforilasi protein Akt, suatu kompleks protein yang penting untuk menghambat proses apoptosis melalui penghambatan aktivasi caspase oleh Cyt C. Tidak adanya proses fosforilasi protein Akt dalam jangka waktu lama akan memacu terbukanya *PT-pore* yang memungkinkan pelepasan Cyt C dan konsekuensi akhir adalah teraktivasinya caspase dan terjadinya apoptosis<sup>11</sup>.

Pembentukan radikal bebas secara berlebihan selama metabolisme alkohol juga disebut-sebut memberi dampak pada kerusakan sel neuron. Jalur metabolisme alkohol yang berlebihan mengakibatkan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) sehingga menyebabkan konsumsi antioksidan yang secara berlebihan, penurunan kadar glutation, peningkatan katalase, dan berbagai proses lain yang membawa dampak stres oksidatif<sup>12</sup>. Peningkatan kadar ROS dalam tubuh memberi dampak yang buruk pada membran sel, demikian pula terhadap membran mitokondria. Kerusakan membran akibat ROS ini didasarkan pada penelitian bahwa radikal bebas menimbulkan efek peroksidasi lipid, asam nukleat, dan beberapa jenis protein. Efek ini biasa ditemukan pada konsumsi alkohol dalam dosis yang besar sehingga alkohol dimetabolisme melalui jalur lain yaitu *Microsomal Ethanol Oxydizing System* (MEOS), yang melibatkan CYP2E1. Proses ini turut serta dalam proses metabolisme alkohol tapi di lain pihak menambah akumulasi ROS, padahal pada konsumsi alkohol dalam jumlah yang besar, jumlah antioksidan dalam tubuh banyak terpakai<sup>13</sup>.

Metabolisme alkohol juga menghasilkan senyawa antara berupa asetaldehid yang toksik. Senyawa ini dengan cepat dimetabolisme menjadi asetat yang tidak toksik oleh enzim Aldehid Dehidrogenase (ALDH). Pada konsumsi alkohol yang berlebihan, kemampuan metabolisme enzim ini dapat terlampaui dan menyebabkan menumpuknya asetaldehid, padahal senyawa ini jauh lebih toksik daripada alkohol itu sendiri. Toksisitas asetaldehid didasarkan pada kemampuannya dalam mengikat protein sehingga membentuk kompleks *Aldehid-Protein Adduct* (APA). Protein yang dapat diikat asetaldehid bermacam-macam, mulai dari protein struktural seperti mikrotubulin, hingga protein darah seperti albumin. Pembentukan APA pada penelitian *in vitro* terbukti menyebabkan berbagai efek yang merugikan pada berbagai bagian otak karena menyebabkan kerusakan protein yang diikatnya. Pada sel purkinje misalnya, pembentukan APA

menyebabkan rusaknya protein mikrotubular pada dendrit neuron sehingga terjadi regresi dendrit yang khas pada kerusakan sel purkinje akibat alkohol<sup>14</sup>.

Mekanisme lain yang diajukan dalam menjelaskan toksisitas alkohol yaitu diduga akibat defisiensi nutrisi. Konsumsi alkohol kronik ternyata menyebabkan defisiensi nutrisi melalui beberapa cara. Pada beberapa penelitian, alkohol terbukti menurunkan sekresi enzim digestif pankreas sehingga menghambat pemecahan nutrisi menjadi molekul yang dapat diabsorpsi oleh saluran cerna. Ditambah lagi efek destruktif alkohol terhadap sel-sel pada lambung dan usus halus yang turut memperparah proses transportasi nutrisi ke darah. Salah satu contoh zat yang mengalami defisiensi dan berdampak langsung terhadap toksisitas alkohol diantaranya *niacin*. Di dalam tubuh, *niacin* berguna sebagai koenzim *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD). Koenzim ini sangat berperan dalam proses konversi asetaldehid menjadi asetil KoA. Kekurangan unsur zat ini sudah tentu memperlambat metabolisme alkohol sehingga akan menambah akumulasi asetaldehid, padahal asetaldehid seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, jauh lebih lebih toksik dibanding alkohol itu sendiri. Defisiensi vitamin lain seperti C dan E juga akan menyebabkan dampak lain seperti penurunan antioksidan<sup>15</sup>.

Sel granula adalah sejumlah besar sel neuron yang menempati korteks cerebellum pada lapisan granula. Ukurannya sangat kecil bahkan merupakan sel terkecil pada sistem saraf pusat (5µm). Pada manusia, diperkirakan terdapat  $\pm 4,6 \times 10^{10}$  sel yang menempati lapisan granula. Sel granula mendapat masukan impuls dari *mossy fiber* yang berasal dari *columna vertebralis*, cabang-cabang *trigeminal*, *columna dorsalis*, dan nukleus retikularis. Impuls tersebut bersifat eksitatorik<sup>16</sup>. Sel granula meneruskan impuls eksitatorik melalui akson yang membentuk *parallel fibers*. Berbeda dengan *climbing fiber* (sumber input lainnya yang berasal dari nukleus olivarius inferior), *parallel fibers* bersinaps pada 300 – 500 sel purkinje. Ia meneruskan impuls dalam skala rendah, tapi bersinaps pada sel purkinje dalam jumlah besar sehingga setiap gangguan terhadap jalur ini akan mempengaruhi sel purkinje sebagai sel target dalam jumlah yang banyak<sup>17</sup>.

Pengurangan sel granula akan mengganggu impuls eksitatorik yang diteruskan ke sel purkinje. Ini berakibat terganggunya output yang diteruskan cerebellum yang berakibat pada terganggunya aspek pembelajaran motorik. Proses transmisi *output* ke *Upper Motor Neuron* (UMN) pun akan terganggu sehingga sedikit banyak mengganggu koordinasi motorik. Hal ini mengingat *mossy fiber* dan sel

granula membawa impuls dari semua level columna vertebralis, sensori, dan informasi motorik dari korteks cerebri<sup>18</sup> (Purves ). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Fakhurrazy (2004) yang mendapatkan adanya penurunan jumlah sel Purkinje serta penurunan koordinasi motorik yang diukur dengan lamanya tikus bertahan di atas rotarod setelah pemberian alkohol peroral secara kronis<sup>19</sup>.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, disimpulkan bahwa paparan alkohol kronik menurunkan kepadatan sel granula pada lapisan granular cerebellum tikus putih.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Prof. dr. Sri Kadarsih Soedjono, M.Sc, Ph.D atas bimbingannya, Bp. Marsudi, Ibu Wiwid, Ibu Yati, Bapak Gito, Alex, Nina, Sheila, Thedjo dan Anton atas bantuannya teknisnya.

### KEPUSTAKAAN

1. Chudler EH. Effects of Alcohol on the Nervous System. 2003 [cited 2003 Oct 10]. Available from <http://www.faculty.washington.edu/chudler>
2. Joewana S. Gangguan Penggunaan Zat. Jakarta: Penerbit PT Gramedia, 1989.
3. Trujillo KA, Chinn AB. Ethanol. California State University San Marcos, 1996. [cited 2003 Sept 16]. Available from <http://www.csusm.edu/>
4. diPalma JR, diGregorio GJ. Basic Pharmacology in Medicine. 3<sup>rd</sup>ed. Singapore: Mc Graw-Hill International Edition, 1990.
5. Karhune PJ, Erkinjuntti T, Laippala P. Moderate Alcohol Consumption and Loss of Cerebellar Purkinje Cells. *BMJ* 1994; 308: 1663-7.
6. Tavares MA, Barbosa P, Cadete-Leite A. Chronic Alcohol Consumption Reduces the Cortical Layer Volume and the Number of Neurons of the Rat Cerebellar Cortex. *Alcohol Clin Exp Res* 1987; 11(3):315-9.
7. Goldowitz D, Cushing RC, Laywell E, D'Arcangelo G, Sheldon M, Sweet HO, Davisson M, et al. Cerebellar Disorganization Characteristic of Reeler in Scrambler Mutant Mice Despite Presence of Reelin. *J. Neurosci* 1997; 17 (22): 8767.
8. Doughty MI, DeJoger PI, Korsmeyer SJ, Heintz N. Neurodegeneration in Lurcher Mice Occurs via Multiple Cell Death Pathways. *J Neurosci* 2000; 20(10): 3687-3694.
9. Trujillo KA, Chinn AB. Ethanol. 1996 [cited 2003 Sept 16] California State University San Marcos. Available from <http://www.csusm.edu/>
10. Green DR, Reed JC. Mitochondria & Apoptosis. *Science* 1998; 281(5381):1309-1312.
11. Bhawe SV, Ghoda L, Hoffman PL. Brain-Derived Neurotrophic Factor Mediates the Anti-Apoptotic Effect of NMDA in Cerebellar Granula Neurons: Signal Transduction Cascades and Site of Ethanol Action. *J Neurosci* 1999; 19(9): 3277-3286.
12. Goodlett CR, Horn KH. Mechanism of Alcohol-Induced Damage to Developing Nervous System. *Alcohol Res. and Health* 2001; 25(3) : 176-84.
13. Massini A, Cecarelli D, Gallesi D, Giovannini F, Trenti T. Lipid Hydroperoxide Induced Mitochondrial Dysfunction Following Acute Ethanol Intoxication in Rats: The Critical Role for Mitochondrial Reduced Glutathione. *Biochem Pharmacol* 1994; 47(2): 217-24.
14. Rintala J, Jaatinen P, Parkilla S. Evidence of Acetaldehyde-Protein Adduct Formation in Rat Brain after Life-long Consumption of Ethanol. *Alcohol and Alcoholism* 2000; 35(5): 456-463.
15. Whitney E, Rolfes S. Alcohol and Nutrition: Highlight in Understanding Nutrition. 7<sup>th</sup> ed. West Publishing Co. 1996; 265-276.
16. Aswin, S. *Systema Nervosum Centrale*. Yogyakarta: Bagian Anatomi, Embriologi, dan Anthropologi FK UGM, 1996.
17. Thach Jr WT. *Medical Physiology*. 14<sup>th</sup> edition vol I. Toronto: The CV Mosby Company, 1980.
18. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D. *Neuroscience*. 2<sup>nd</sup> ed. Massachusetts: Sinauer Associates Inc, 1999.
19. Fakhurrazy. Koordinasi Motorik dan Jumlah Sel Purkinje Cerebellum pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Dewasa setelah Pemberian Alkohol Peroral. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. 2004.