



---

*Research article*

## **Pengaruh Terapi Oksigen Hiperbarik Terhadap Kadar Enzim Katalase Jaringan Otak Tikus Model Alkohol Kronis**

VIRA AULIA KUSUMA WARDANI<sup>1</sup>, NI KOMANG SRI DEWI UNTARI<sup>2</sup>, KETUT EDY SUDIARTA<sup>3</sup>, VERNA BIUTIFASARI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran, Universitas Hang Tuah Surabaya

<sup>2</sup>Departemen Saraf, Universitas Hang Tuah, Surabaya

<sup>3</sup>Departemen Obstetri dan Ginekologi, Universitas Hang Tuah, Surabaya

<sup>4</sup>Departemen Patologi Klinik, Universitas Hang Tuah, Surabaya

Alamat email penulis korespondensi: viraaulia20190410091@gmail.com

### Abstract

Alcohol abuse is a serious problem after substance and drug abuse. As many as 3.3 million people died worldwide as a result of alcohol use in 2018 which is responsible for 5.1% of the global disease burden. Alcohol abuse can increase the production of reactive oxygen species (ROS). ROS have a negative impact on the brain which results in a decrease in catalase enzyme levels. Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) can reduce ROS production and affect levels of catalase enzymes. Wistar strain white rats were induced with 20% alcohol 4.5 ml/kg BW every day for 6 weeks to get a chronic alcohol model. This study used three groups, namely the non-induced control group (K0), the alcohol-induced treatment group without HBOT (K1), the alcohol-induced intervention group, and HBOT (K2). In measuring catalase levels, the mean and standard deviation were K0 ( $877.74 \pm 69.54$  IU/L), K1 ( $617.8 \pm 245.32$  IU/L), and K2 ( $952.85 \pm 47.40$  IU/L); The Mann-Whitney U statistical test on catalase levels experienced significant differences in each group ( $p < 0.05$ ). Hyperbaric oxygen therapy has been shown to affect catalase enzyme levels in animal models of chronic alcoholism.

**Keywords:** Hyperbaric oxygen Therapy, Catalase, Alcohol Abuse

## Abstrak

Penyalahgunaan alkohol merupakan salah satu permasalahan serius setelah penyalahgunaan zat dan obat terlarang. Sebanyak 3,3 juta orang meninggal di dunia akibat penggunaan alkohol pada tahun 2018 dan bertanggung jawab atas 5,1% beban penyakit global. Penyalahgunaan alkohol dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS). ROS menimbulkan dampak negatif terhadap serebelum yang berakibat pada penurunan kadar enzim katalase. Terapi oksigen hiperbarik (TOHB) dapat menurunkan produksi ROS dan berpengaruh terhadap kadar enzim katalase cerebellum. Membuktikan pengaruh terapi oksigen hiperbarik terhadap kadar enzim katalase cerebellum hewan coba model alkohol kronis. Tikus putih galur wistar diinduksi dengan alkohol 20% 4,5ml/kgBB setiap hari selama 6 minggu untuk mendapatkan model alkohol kronis. Penelitian ini menggunakan tiga kelompok yaitu kelompok kontrol yang tidak diinduksi (K0), kelompok perlakuan yang diinduksi alkohol tanpa TOHB (K1), kelompok intervensi yang diinduksi alkohol dan TOHB (K2). Pengukuran kadar katalase didapatkan rerata dan standar deviasi sebesar K0 (877,74 ± 69,54 IU/L), K1 (617,8 ± 245,32 IU/L), dan K2 (952,85 ± 47,40 IU/L); Uji statistik Mann-Whitney U (kadar katalase mengalami perbedaan yang signifikan di tiap kelompok ( $p < 0,05$ )). Terapi oksigen hiperbarik terbukti berpengaruh terhadap kadar enzim katalase pada hewan coba model alkohol kronis.

**Kata kunci** : *Terapi Oksigen Hiperbarik, Katalase, Penyalahgunaan Alkohol, Cerebellum*

## PENDAHULUAN

Penyalahgunaan alkohol merupakan salah satu permasalahan serius yang dapat terjadi pada segala usia dan telah menyebabkan meninggalnya 3,3 juta orang di dunia akibat dampaknya (Irmayanti, 2015; Pribadi, 2017; WHO, 2018; de Wolde *et al.*, 2022). Penyalahgunaan alkohol penyakit kronis dan masalah serius lainnya terutama pada sistem saraf (Hammoud & Jimenez-Shahed, 2019; CDC, 2022). Beberapa gangguan yang dapat terjadi pada sistem saraf pusat yaitu pengurangan *cerebral white matter*, degenerasi saraf dan gangguan kognitif (Tiwari & Chopra, 2013; De La Monte & Kril, 2014).

Cedera otak yang dimediasi alkohol merupakan konsekuensi dari cedera hati melalui *liver-brain axis*. Penyalahgunaan alkohol dalam jangka waktu lama menyebabkan peradangan, pembengkakan, atau perlukaan hati (Obad *et al.*, 2018). Cedera hati kronis menyebabkan produksi mediator inflamasi, efek toksik, dan

metabolik yang dapat melukai otak (De La Monte & Kril, 2014; Hammoud & Jimenez-Shahed, 2019). Konsumsi alkohol kronis menginduksi perkembangan steatosis alkoholik di hati (Kim, Choi & Jeong, 2020). Metabolisme alkohol terjadi pada hati dibantu oleh enzim *alkohol dehidrogenase* (ADH) dan *asetaldehida dehidrogenase* (ALDH) menghasilkan produk akhir berupa asetat. Metabolisme alkohol pada jaringan diluar hati utamanya dikatalisis oleh enzim katalase (CAT) dan ALDH. Reaksi yang dikatalisis oleh ALDH membentuk produk sampingan berupa *reactive oxygen species* (ROS). ROS yang meningkat dapat mengganggu fungsi hati yang nantinya dapat berdampak pada metabolisme yang terjadi di otak. (Hammoud & Jimenez-Shahed, 2019; Kim, Choi & Jeong, 2020).

Oksigen merupakan gas penting yang dibutuhkan dalam proses metabolisme manusia. Terapi oksigen hiperbarik (TOHB) adalah pemberian oksigen 100% dalam ruangan bertekanan lebih tinggi dari tekanan atmosfer (1 atmosfer absolut = 101 kPa), yaitu sekitar 1,4 ATA hingga 2,8 ATA tergantung dari indikasi pasien (Atzeni *et al.*, 2020). Tekanan O<sub>2</sub> dalam darah arteri dapat meningkat hingga 2000 mmHg, dan gradien tekanan oksigen darah ke jaringan yang tinggi meningkatkan tekanan O<sub>2</sub> jaringan hingga 500 mmHg selama prosedur TOHB. Peningkatan tekanan O<sub>2</sub> di jaringan ini dianggap berharga untuk penyembuhan gangguan inflamasi terutama pada pengurangan pembentukan ROS (Choudhury, 2018; de Wolde *et al.*, 2022).

Efek yang ditimbulkan oleh penyalahgunaan alkohol adalah kerusakan hati yang pada akhirnya dapat menghasilkan banyak inflamasi dan terbentuknya ROS sehingga secara tidak langsung dapat mempengaruhi kondisi jaringan otak. TOHB diharapkan dapat mengurangi produksi ROS dan inflamasi yang ditimbulkan oleh penyalahgunaan alkohol ini.

## **METODE PENELITIAN**

### **Hewan Coba**

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih galur Wistar jantan usia 6 bulan dengan berat 100-130 gram yang berasal dari Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah, Surabaya. Prosedur penelitian yang dilakukan telah

mendapat izin etik dari komite etik penelitian Universitas Hang Tuah. Tikus dikelompokkan dalam tiga kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol (K0), kelompok perlakuan yang diberi induksi alkohol kronis (K1), dan kelompok intervensi yang diberi induksi alkohol kronis dan TOHB (K2). Penelitian dilakukan dengan metode *true experimental post-test only randomized control group design*. Laboratorium hewan coba dimonitor setiap hari dengan siklus penerangan 12 jam terang/gelap. Tikus diberikan pakan standar secara *ad libitum*.

### **Model Alkohol Kronis**

Tikus diadaptasikan selama 7 hari pada lab hewan coba, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan model alkohol kronis. Tikus kelompok kontrol (K0) tidak hanya diberi pakan standar selama masa penelitian tanpa diberi alkohol maupun TOHB. Tikus kelompok perlakuan (K1) dan intervensi (K2) diberi alkohol 20% dengan dosis 4,5 gram/kgBB setiap hari selama 6 minggu untuk membuat model alkohol kronis. Penentuan dosis perkelompok dilakukan dengan menghitung berat rerata tikus perkelompok kemudian menghitung dosis pemberian alkohol perkelompok percobaan (Hau & Van Hoosier, 2003; Shirpoor *et al.*, 2012).

### **Terapi Oksigen Hiperbarik**

Setelah menjalani 6 minggu pemberian alkohol, pada hari ke-43 hingga 53, kelompok intervensi (K2) melakukan terapi oksigen hiperbarik 2,4 ATA 3x30 menit dengan 2x5 menit istirahat setiap hari (Jain, 2017).

### **Pengambilan Cerebellum**

Hewan coba diberi larutan Ketamine 10% 1,5cc secara intramuscular sebagai tahap anestesi sebelum pengambilan organ (Carta, Mameli & Valenzuela, 2004). Pengambilan cerebellum terdiri atas dua tahap, yaitu pembukaan kulit kepala dan pembukaan cranium dan ekstraksi otak. Posisikan tikus telungkup lalu fiksasi keempat ekstremitas menggunakan jarum. Fiksasi kepala tikus menggunakan forceps, potong kulit dengan potongan memanjang median dari tengkuk ke

moncong tikus. Setelah terpotong, tarik kulit kepala tikus ke arah lateral agar seluruh tengkorak dapat terlihat dengan baik. Buka cranium dengan membuat potongan melintang setinggi septum nasi yang membagi dua cavum orbita. Dalam hal ini, pastikan bahwa gunting tidak masuk terlalu dalam pada cavum nasi. Lalu potong tulang oksipital dan temporal dan keluarkan cerebellum (Covelli, 2022).

### **Pengukuran Katalase**

Pengukuran katalase dilakukan dalam di akhir perlakuan atau *post* perlakuan. Tahap pertama dilakukan pada kelompok kontrol (K0) dan perlakuan (K1) pada hari terakhir minggu keenam pemberian alkohol. Kelompok intervensi (K2) kemudian menjalani TOHB tekanan 2,4 ATA selama 3x30 menit dan istirahat selama 2x5 menit dalam kurun waktu 10 hari lalu diterminasi pada hari kesepuluh dan diambil jaringan cerebellumnya (Jain, 2017). Bagian cerebellum hewan coba diambil menggunakan prosedur bedah sederhana kemudian di letakkan dalam larutan buffer fosfat dan selanjutnya dihomogenisasi dengan melakukan sentrifugasi 3000 rpm selama 10 menit. Larutan supernatan lalu diambil dan ditambahkan dengan 1 ml hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 60 mm. Hasil yang diperoleh dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 350 nm. Pengukuran kadar katalase menggunakan metode *spectrophotometric assay* (Hadwan, 2018). Hasil yang diperoleh diinterpolasi pada kurva baku.

### **Perhitungan Statistik**

Setelah seluruh kadar katalase diukur, data kemudian diolah secara statistik menggunakan aplikasi SPSS. Data kadar katalase diuji dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U*. Bila nilai signifikansi  $p < 0.05$  maka data bersifat signifikan.

### **HASIL PENELITIAN**

Kadar katalase yang terukur pada penelitian ini pada tiap kelompok percobaan terdapat dalam tabel 1.

**Table 1.** Hasil pengukuran kadar katalase jaringan otak hewan coba pada tiap kelompok percobaan di laboratorium Biokimia FK UHT tahun 2022

Kelompok kontrol (K0)	Katalase (IU/L)	Kelompok perlakuan (K1)	Katalase (IU/L)	Kelompok intervensi (K2)	Katalase (IU/L)
K0.1	933.67	K1.1	516.33	K2.1	966.33
K0.2	902.67	K1.2	909.67	K2.2	892
K0.3	926.67	K1.3	803	K2.3	956
K0.4	748.33	K1.4	407.67	K2.4	980
K0.5	980	K1.5	884.33	K2.5	987.33
K0.6	835	K1.6	265.67	K2.6	1017.67
K0.7	860.67	K1.7	855.67	K2.7	982.33
K0.8	822.33	K1.8	406.67	K2.8	878.33
K0.9	890.33	K1.9	511.33	K2.9	915.67
<b>Rerata</b>	<b>877,74</b>	<b>Rerata</b>	<b>617,8</b>	<b>Rerata</b>	<b>952,85</b>

Rerata dan standar deviasi kadar enzim katalase pada tiap kelompok percobaan yaitu K0 ( $877,74 \pm 69,54$ ); K1 ( $617,8 \pm 245,32$ ), dan K2 ( $952,85 \pm 47,40$ ). Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan hasil signifikan dengan  $p = 0,001$ . Hasil uji *Mann-Whitney U* antara 3 kelompok perlakuan menunjukkan angka yang signifikan lebih tinggi dengan K0&K1 ( $p=0,19$ ); K1&K2 ( $p=0,001$ ); dan K0&K2 ( $p=0,22$ ).

## PEMBAHASAN

Penggunaan alkohol dengan konsentrasi 20% selama 6 minggu dilakukan untuk membuat hewan coba menjadi model alkohol kronis (Kozawa *et al.*, 2007; Shirpoor *et al.*, 2012; Sabino *et al.*, 2013). Dastidar dan kolega telah melakukan studi pada hewan coba, dan model hewan coba alkohol kronis yang mereka buat juga dengan memberikan alkohol dengan dosis 4.5 gram per kilogram. Hasil yang ditimbulkan dari penelitian ini yaitu peningkatan aktivitas alanine transaminase (ALT)

plasma, apoptosis hepatosit, dan microvesicular liver steatosis (Kirpich *et al.*, 2012). Sedangkan studi yang dilakukan oleh Light dan kolega, menunjukkan bahwa pemberian alkohol dengan dosis yang sama dapat menyebabkan kematian yang signifikan dari sel purkinje (Light, Hayar & Pierce, 2015).

Efek alkoholisme pada otak bervariasi dan dipengaruhi oleh berbagai variabel termasuk jumlah alkohol yang dikonsumsi, usia saat seseorang mulai minum, durasi minum, dan beberapa faktor lainnya (Hommer, 2003). Serebelum sangat rentan terhadap alkohol, baik selama perkembangan dalam kandungan dan masa kanak-kanak maupun pada masa dewasa. Pada orang dewasa, alkoholisme kronis menimbulkan atrofi *vermis cerebellar*, sehingga lobus anterior serebelum menjadi sangat rentan. Paparan prenatal terhadap alkohol menyebabkan gangguan spektrum alkohol janin (*Fetal Alcohol Spectrum Disorder/FASD*), yang ditandai dengan cacat bawaan permanen pada domain motorik dan kognitif, termasuk defisit pada kecerdasan umum, perhatian, fungsi eksekutif, bahasa, memori, persepsi visual, dan keterampilan komunikasi/sosial. Berbagai mekanisme mendasari kematian sel yang diinduksi etanol, dengan stres oksidatif dan stres retikulum endoplasma (*Endoplasmic Reticulum/ER*) menjadi mekanisme pro-apoptosis utama dalam penyalahgunaan alkohol dan FASD (Mitoma, Manto & Shaikh, 2021).

Keracunan alkohol kronis dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif. Mekanisme dimana etanol memicu peningkatan produksi spesies oksigen reaktif ROS dan peran mitokondria dalam perkembangan stres oksidatif masih belum cukup dipelajari (Teplova *et al.*, 2017). Otak terutama neuron sangat rentan terhadap efek stres oksidatif dan nitrosatif (Trujillo *et al.*, 2020). Alkohol berkaitan dengan hiper-inflamasi, pembentukan ROS, dan akhirnya menimbulkan kematian neuron. Alkohol memicu respons inflamasi dan menyebabkan status hiper-inflamasi, yang memediasi efeknya yang merusak. Dalam sel mikroglial etanol mengatur perekrutan *toll-like receptor 4* (TLR4) dan *toll-like receptor 2* (TLR2) ke dalam lipid rakit-caveolae (*lipid rafts-caveolae*), meniru aktivasi mereka oleh ligan mereka. Perekrutan TLR4 dan TLR2 ini akan memicu induksi mediator inflamasi, pembentukan ROS dan akhirnya menyebabkan peradangan saraf dan kematian sel

saraf. Penyalahgunaan alkohol kronis juga mempengaruhi integritas *blood brain barrier* (BBB), yang dapat meningkatkan masuknya mediator proinflamasi dan leukosit ke otak. BBB terutama terdiri dari sel-sel endotel khusus yang melapisi pembuluh darah otak, dikelilingi oleh perisit, prosesus astrositik, dan neuron. Alkohol dapat langsung melewati BBB, akhirnya mencapai sel-sel otak dan selanjutnya menyebabkan toksisitas saraf, namun mekanisme yang mendasarinya tidak sepenuhnya dipahami. Diperkirakan bahwa paparan etanol kronis menginduksi stres oksidatif dan peradangan saraf sebagian dengan memengaruhi ekspresi *platelet endothelial cell adhesion molecule -1* (PECAM-1) (Fernandez-Lizarbe, Montesinos & Guerri, 2013)

Oksigen hiperbarik menyebabkan banyak efek fisiologis (Weaver, 2012). Terapi oksigen hiperbarik memiliki efek menguntungkan dalam mengurangi keadaan inflamasi dengan memodulasi stres oksidatif, termasuk peroksidasi lipid, dan meningkatkan enzim antioksidan. TOHB menurunkan peningkatan aktivitas CAT dan malondialdehyde yang diinduksi reperfusi (Camporesi & Bosco, 2014). Penelitian pada hewan menunjukkan efek signifikan TOHB pada enzim anti-oksidan di otak, paru-paru, dan eritrosit. TOHB meningkatkan enzim antioksidan (Oter *et al.*, 2005). Kondisi iskemia dan reperfusi yang dapat meningkatkan terbentuknya ROS, apabila diberi intervensi berupa TOHB, dapat meningkatkan aktifitas serum katalase secara signifikan (Bosco *et al.*, 2007). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan. Bahwa ada pengaruh pemberian TOHB dengan tekanan 2,4 ATA selama 3x30 menit dengan interval 5 menit selama 10 hari berturut-turut, terhadap kadar katalase yang berasal dari jaringan otak tikus galur wistar jantan model alkohol kronis.

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis statistik dapat disimpulkan bahwa pemberian TOHB 2,4 ATA dengan durasi 3x30 menit, dengan interval 5 menit menghirup udara biasa yang dilakukan selama 10 hari berturut-turut dapat



meningkatkan kadar serum katalase pada jaringan otak hewan coba model alkohol kronis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atzeni, F., Masala, I.F., Cirillo, M., Boccassini, L., Sorbara, S. and Alciati, A., 2020. Hyperbaric oxygen therapy in fibromyalgia and the diseases involving the central nervous system. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 38,123, pp.S94–S98.
- Bosco, G., Yang, Z., Nandi, J., Wang, J., Chen, C. and Camporesi, E.M., 2007. Effects Of Hyperbaric Oxygen On Glucose, Lactate, Glycerol And Anti-Oxidant Enzymes In The Skeletal Muscle Of Rats During Ischaemia And Reperfusion. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34,1–2, pp.70–76. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04548.x>.
- Carta, M., Mameli, M. and Valenzuela, C.F., 2004. Alcohol Enhances GABAergic Transmission to Cerebellar Granule Cells via an Increase in Golgi Cell Excitability. *The Journal of Neuroscience*, [online] 24,15,p.3746. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0067-04.2004>.
- Camporesi, E.M. and Bosco, G., 2014. Mechanisms of action of hyperbaric oxygen therapy. *Undersea & hyperbaric medicine: journal of the Undersea and Hyperbaric Medical Society, Inc*, 41,3, pp.247–252.
- CDC, 2022. Alcohol Use and Your Health. In: CDC. [online] Available at: <<https://www.cdc.gov/alcohol/fact-sheets/alcohol-use.htm>> [Accessed 16 July 2022].
- Choudhury, R., 2018. Hypoxia and hyperbaric oxygen therapy: a review. *International Journal of General Medicine*, [online] pp.11–431. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S172460>.
- Covelli, V., 2022. *Guide to the Necropsy of the Mouse*. norecopa.
- Fernandez-Lizarbe, S., Montesinos, J. and Guerri, C., 2013. Ethanol induces TLR4/TLR2 association, triggering an inflammatory response in microglial cells. *Journal of neurochemistry*, [online] 126,2,pp.261–273. <https://doi.org/10.1111/JNC.12276>.
- Hadwan, M.H., 2018. Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochemistry*, 19,1,p.7. <https://doi.org/10.1186/s12858-018-0097-5>.

- Hammoud, N. and Jimenez-Shahed, J., 2019. Chronic Neurologic Effects of Alcohol. *Clinics in liver disease*, [online] 23,1, pp.141–155. <https://doi.org/10.1016/J.CLD.2018.09.010>.
- Hau, Jann. and Van Hoosier, G.L., 2003. *Handbook of laboratory animal science*. CRC Press.
- Hommer, D.W., 2003. Male and female sensitivity to alcohol-induced brain damage. *Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 27,2, pp.181–5.
- Irmayanti, A., 2015. Penyalahgunaan Alkohol Di Kalangan Mahasiswa.
- Jain, K.K., 2017. *Textbook of Hyperbaric Medicine*. [online] Cham: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47140-2>.
- Kim, H.H., Choi, S.E. and Jeong, W. II, 2020. Oxidative stress and glutamate excretion in alcoholic steatosis: Metabolic synapse between hepatocyte and stellate cell. *Clinical and molecular hepatology*, [online] 26,4, pp.697–704. <https://doi.org/10.3350/CMH.2020.0152>.
- Kirpich, I., Ghare, S., Zhang, J., Gobejishvili, L., Kharebava, G., Barve, S.J., Barker, D., Moghe, A., McClain, C.J. and Barve, S., 2012. Binge alcohol-induced microvesicular liver steatosis and injury are associated with down-regulation of hepatic Hdac 1, 7, 9, 10, 11 and up-regulation of Hdac 3. *Alcoholism, clinical and experimental research*, [online] 36,9, pp.1578–1586. <https://doi.org/10.1111/J.1530-0277.2012.01751.X>.
- Kozawa, S., Yukawa, N., Liu, J., Shimamoto, A., Kakizaki, E. and Fujimiya, T., 2007. Effect of chronic ethanol administration on disposition of ethanol and its metabolites in rat. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, [online] 41,2, pp.87–93. <https://doi.org/10.1016/J.ALCOHOL.2007.03.002>.
- De La Monte, S.M. and Kril, J.J., 2014. Human alcohol-related neuropathology HHS Public Access. *Acta Neuropathol*, [online] 127,1, pp.71–90. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1233-3>.
- Light, K.E., Hayar, A.M. and Pierce, D.R., 2015. Electrophysiological and Immunohistochemical Evidence for an Increase in GABAergic Inputs and HCN Channels in Purkinje Cells that Survive Developmental Ethanol Exposure. *Cerebellum (London, England)*, 14,4, pp.398–412. <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0651-2>.
- Mitoma, H., Manto, M. and Shaikh, A.G., 2021. Mechanisms of Ethanol-Induced Cerebellar Ataxia: Underpinnings of Neuronal Death in the Cerebellum.

*International journal of environmental research and public health*, 18,16.  
<https://doi.org/10.3390/ijerph18168678>.

- Obad, A., Peeran, A., Little, J.I., Haddad, G.E. and Tarzami, S.T., 2018. Alcohol-mediated organ damages: Heart and brain. *Frontiers in Pharmacology*, 9(FEB), p.81. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2018.00081/BIBTEX>.
- Oter, S., Korkmaz, A., Topal, T., Ozcan, O., Sadir, S., Ozler, M., Ogur, R. and Bilgic, H., 2005. Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain, and erythrocytes. *Clinical Biochemistry*, [online] 38,8, pp.706–711. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.04.005>.
- Pribadi, E.T., 2017. Penyalahgunaan Alkohol di Indonesia: Analisis Determinan, SWOT, dan CARAT Alcohol Abuse in Indonesia: Determinant, SWOT, and CARAT Analysis. *Journal of Health Science and Prevention*, 1(1).
- Sabino, V., Kwak, J., Rice, K.C. and Cottone, P., 2013. Pharmacological characterization of the 20% alcohol intermittent access model in Sardinian alcohol-preferring rats: a model of binge-like drinking. *Alcoholism, clinical and experimental research*, [online] 37,4, p.635. <https://doi.org/10.1111/ACER.12008>.
- Shirpoor, A., Salami, S., Khadem-Ansari, M.H., Heshmatian, B. and Ilkhanizadeh, B., 2012. Long-term ethanol consumption initiates atherosclerosis in rat aorta through inflammatory stress and endothelial dysfunction. *Vascular Pharmacology*, 57,2–4, pp.72–77. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2012.04.001>.
- Teplova, V. v., Kruglov, A.G., Kovalyov, L.I., Nikiforova, A.B., Fedotcheva, N.I. and Lemasters, J.J., 2017. Glutamate contributes to alcohol hepatotoxicity by enhancing oxidative stress in mitochondria. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, [online] 49,3, pp.253–264. <https://doi.org/10.1007/S10863-017-9713-0>.
- Tiwari, V. and Chopra, K., 2013. Resveratrol abrogates alcohol-induced cognitive deficits by attenuating oxidative–nitrosative stress and inflammatory cascade in the adult rat brain. *Neurochemistry International*, 62,6, pp.861–869. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.02.012>.
- Trujillo, V., Macchione, A.F., Albrecht, P.A., Virgolini, M.B. and Molina, J.C., 2020. Learning experiences comprising central ethanol exposure in rat neonates: Impact upon respiratory plasticity and the activity of brain catalase. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, [online] 88, pp.11–27. <https://doi.org/10.1016/J.ALCOHOL.2020.06.004>.

Weaver, L.K., 2012. Hyperbaric medicine for the hospital-based physician. *Hospital practice (1995)*, 40,3, pp.88–101. <https://doi.org/10.3810/hp.2012.08.993>.

WHO, 2018. *Global status report on alcohol and health*. [online] Available at: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274603/9789241565639-eng.pdf?ua=1>> [Accessed 16 July 2022].

De Wolde, S.D., Hulskes, R.H., de Jonge, S.W., Hollmann, M.W., van Hulst, R.A., Weenink, R.P. and Kox, M., 2022. The Effect of Hyperbaric Oxygen Therapy on Markers of Oxidative Stress and the Immune Response in Healthy Volunteers. *Frontiers in physiology*, [online] 13. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2022.826163>.