

**PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI
(*PSIDIUM GUAJAVA LINN.*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL
PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus
norvegicus*) yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl₄**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Bumi Rahmatussyifa

30102100044

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2025

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI (*PSIDIUM GUAJAVA LINN.*) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR

**Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)
yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl₄**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

**Bumi Rahmatussyifa
30102100044**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 24 Januari 2025 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes

Pembimbing II



Dina Fatmawati, S.Si, M.Sc

Anggota Tim Penguji



dr. Sumarno, M.Si, Med, Sp.PA



dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed

Semarang, 24 Januari 2025

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Pekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF, S.H

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Bumi Rahmatussyifa

NIM : 30102100044

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

"PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI (PSIDIUM GUAJAVA LINN.) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl₄)"

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak : melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 24 Januari 2025



Bumi Rahmatussyifa

PRAKATA

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberikan kesehatan, kesempatan, kesabaran, dan kekuatan dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul **"PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI (PSIDIUM GUAJAVA LINN.) TERHADAP JUMLAH NEUTROFIL PADA GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl₄)"**

Penulis menyadari akan kekurangan dan keterbatasan, sehingga selama menyelesaikan skripsi ini, penulis mendapat doa, dorongan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF., S.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah membantu dalam pemberian izin penelitian.
2. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Dina Fatmawati, S.Si, M. Sc selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, dan arahan sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. dr. Sumarno, M.Si, Med, Sp. PA selaku Dosen Penguji I dan dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu,

pikiran, serta ilmu dalam penyempurnaan skripsi ini.

4. Laboran Laboratorium IBL FK Unissula yang telah membantu dalam penelitian skripsi penulis.
5. Keluarga tersayang, Bapak Saikhu, Ibu Suryani Adnan, dan Kakak Inges Alifia Sakinata yang telah memberikan dukungan, doa, kasih sayang, dan fasilitas yang tiada henti dalam seluruh perjalanan hidup penulis.
6. Sahabat penulis, Nurdiana Maulia, Nabila Zen, Atina Hanina Mirfaqho Achlis, Nimas Putri Nurhaliza, Ragita Shabrina, Aliya Syukur Widyasari, dan teman-teman Alvometrix 2021 yang telah menjadi *support system* dalam menyelesaikan studi sarjana kedokteran ini.
7. Keluarga besar Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah menjadi wadah pengembangan diri penulis selama masa preklinik ini.
8. Pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini baik secara langsung ataupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik, saran, ataupun masukan yang membangun demi perbaikan di waktu mendatang.

Akhir kata, semoga Allah SWT memberikan balasan kebaikan berlipat ganda bagi semua pihak yang terlibat pada penelitian ini. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi masyarakat serta dapat menjadi sumber informasi, rujukan, maupun acuan bagi penelitian selanjutnya untuk pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kesehatan

Wassalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Semarang, 24 Januari 2025
Penulis,

Bumi Rahmatussyifa



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
1.4.1. Manfaat Teoritis	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Histologi Hepar	5
2.2. Neutrofil.....	8
2.2.1. Faktor yang Mempengaruhi Jumlah Neutrofil	10
2.3. Tanaman Jambu Biji	11
2.3.1. Morfologi	11
2.3.2. Manfaat dan Kandungan Daun Jambu Biji	12
2.4. Pembuatan Model Fibrosis Hati.....	13
2.4.1. Induksi Karbon Tetraklorida (CCl ₄)	13

2.5.	Mekanisme Hepatotoksisitas yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl ₄)	14
2.6.	Pengaruh Air Rebusan Daun Jambu Biji Terhadap Jumlah Neutrofil pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl ₄	15
2.7.	Kerangka Teori.....	18
2.8.	Kerangka Konsep.....	19
2.9.	Hipotesis	19
BAB III METODE PENELITIAN.....		20
3.1.	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	20
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional	20
3.2.1.	Variabel	20
3.2.2.	Definisi Operasional Variabel	21
3.3.	Populasi dan Sampel Penelitian.....	21
3.3.1.	Subjek Penelitian.....	21
3.3.2.	Sampel Penelitian.....	22
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian	23
3.4.1.	Instrumen Penelitian.....	23
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	23
3.5.	Cara Melakukan Penelitian	23
3.5.1.	Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	23
3.5.2.	Pembuatan Air Rebusan Daun Jambu Biji	23
3.5.3.	Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Coba	24
3.5.4.	Induksi pada Tikus	24
3.5.5.	Pemeriksaan Histopatologi Hepar.....	25
3.5.6.	Pembuatan, Pewarnaan, dan Pengamatan Preparat.....	25
3.6.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	26
3.7.	Alur Penelitian	27
3.8.	Analisis Data.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		29
4.1.	Hasil Penelitian	29
4.1.1.	Deskripsi Data.....	30

4.1.2. Distribusi Data	31
4.1.3. Uji Bivariat.....	31
4.2. Pembahasan.....	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1. Kesimpulan	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	42

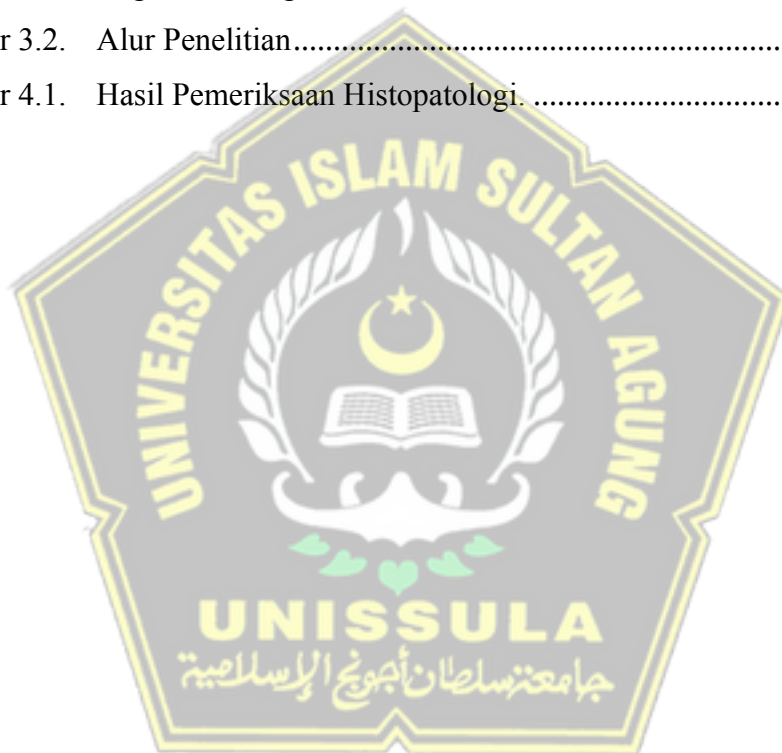


DAFTAR SINGKATAN

ALT	: <i>Alanine Transaminase</i>
ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
AST	: <i>Aspartate Aminotransferase</i>
Cat	: <i>Catalase</i>
CCl ₃	: Triklorometil
CCl ₃ O ₂	: Triklorometil Peroksida
CCl ₄	: Karbon Tetraklorida
COX	: <i>Cyclooxygenase</i>
CXCL	: <i>CXC Chemokine Ligand</i>
GPx	: Glutation Peroksidase
H	: Hidrogen
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
HSC	: <i>Hepatic Stellate Cell</i>
ICAM	: <i>Intercellular Adhesion Molecule</i>
IL	: Interleukin
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
NAFLD	: <i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NET	: <i>Neutrophil Extracellular Trap</i>
O ₂	: Oksigen
OH	: Hidroksil
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoksida Dismutase</i>
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor-Beta</i>
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>

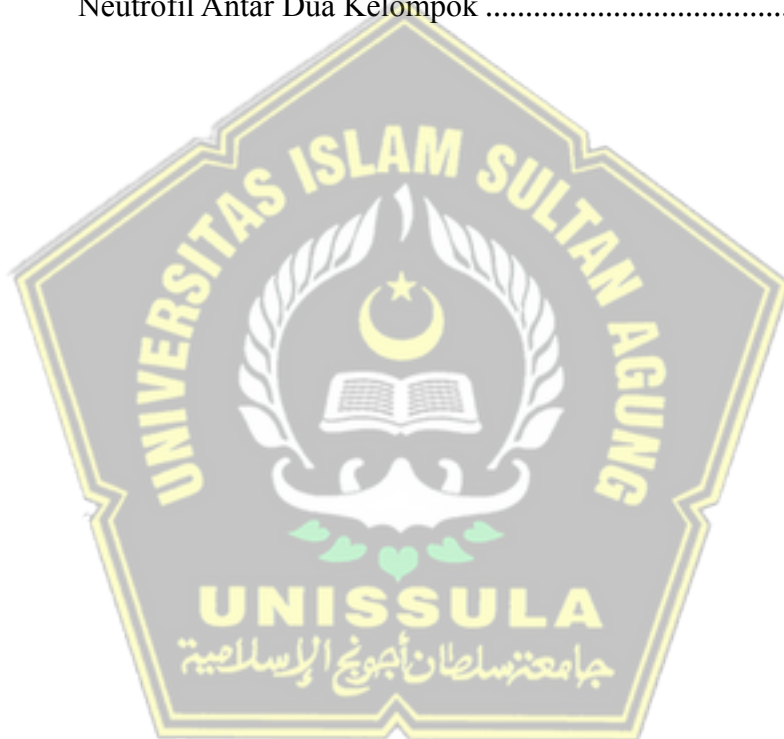
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Lobulus hati manusia.....	5
Gambar 2.2.	Hepar normal	6
Gambar 2.3.	Hepar tikus yang diinduksi CCl ₄ dan efek quercetin.	7
Gambar 2.4.	Kaskade Adhesi Neutrofil.....	9
Gambar 2.5.	Kerangka Teori	18
Gambar 2.6.	Kerangka Konsep	19
Gambar 3.1.	Bagan Rancangan Penelitian.	20
Gambar 3.2.	Alur Penelitian.....	27
Gambar 4.1.	Hasil Pemeriksaan Histopatologi.	30



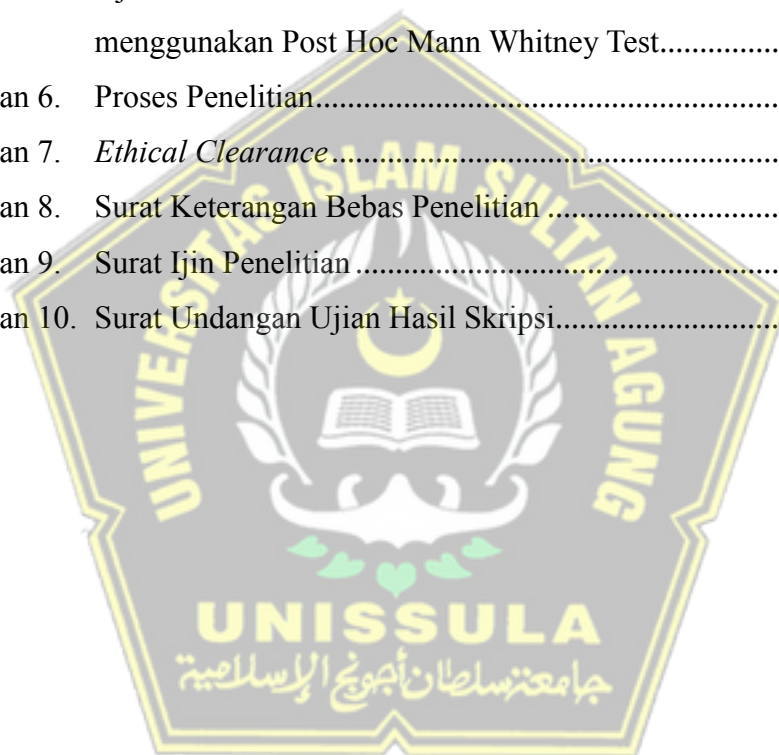
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Deskripsi Jumlah Neutrofil Antar Kelompok	30
Tabel 4.2.	Hasil Uji Normalitas Distribusi dan Homogenitas Varian Data Jumlah Neutrofil Antar Kelompok	31
Tabel 4.3.	Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> Perbedaan Jumlah Neutrofil Antar Kelompok.....	31
Tabel 4.4.	Hasil Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i> Perbandingan Rerata Jumlah Neutrofil Antar Dua Kelompok	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Pengamatan Jumlah Neutrofil pada 5 Lapang Pandang.....	42
Lampiran 2.	Uji Deskripsi Jumlah Neutrofil	43
Lampiran 3.	Uji Normalitas Sebaran Data dan Homogenitas Jumlah Neutrofil	44
Lampiran 4.	Uji Perbedaan Jumlah Neutrofil Ketiga Kelompok menggunakan Kruskal Wallis Test	45
Lampiran 5.	Uji Perbedaan Jumlah Neutrofil antara Dua Kelompok menggunakan Post Hoc Mann Whitney Test.....	46
Lampiran 6.	Proses Penelitian.....	48
Lampiran 7.	<i>Ethical Clearance</i>	49
Lampiran 8.	Surat Keterangan Bebas Penelitian	50
Lampiran 9.	Surat Ijin Penelitian	51
Lampiran 10.	Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	52



INTISARI

Paparan zat kimia seperti karbon tetraklorida (CCl_4) dapat berdampak pada kerusakan hepar berupa fibrosis yang salah satunya ditandai dengan peningkatan jumlah neutrofil. Kerusakan dapat diminimalisir dengan senyawa flavonoid sebagai antioksidan dan antiinflamasi dari air rebusan daun jambu biji. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4 .

Penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design* ini menggunakan 27 ekor tikus. Tikus dibagi tiga kelompok (KS: hanya diinduksi CCl_4 , KP1 dan KP2 diberi air rebusan dari 20 dan 25 lembar daun jambu). Air rebusan daun jambu biji diberikan peroral menggunakan sonde 2x/hari di hari ke-2 hingga ke-8. Jumlah neutrofil dihitung secara mikroskopis dalam lima lapang pandang dari preparat jaringan hepar yang diberi pewarnaan hematoxilin eosin dengan perbesaran 400x.

Hasil jumlah neutrofil di KS sekitar 2-4 sel dengan rerata $2,33 \pm 1,41$ sel, sedangkan pada KP1 dan KP2 tidak ditemukan (0 sel). Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan $p < 0,001$ menunjukkan perbedaan signifikan; uji lanjutan dengan *post hoc Mann Whitney* didapatkan perbedaan jumlah neutrofil antara KS dengan KP1 dan KP2 ($p < 0,001$) menunjukkan perbedaan bermakna tetapi tidak ada perbedaan antara KP1 dengan KP2 ($p = 1,000$).

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian air rebusan daun jambu biji berpengaruh terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus wistar model fibrosis yang diinduksi CCl_4 .

Kata kunci: daun jambu biji, jumlah neutrofil, fibrosis, CCl_4 .

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Fibrosis hati adalah proses pembentukan jaringan parut yang salah satunya terjadi karena merespon paparan zat kimia seperti karbon tetraklorida (CCl_4). CCl_4 bisa terserap oleh tubuh secara inhalasi, ingesti, ataupun kontak lewat kulit (Sayed *et al.*, 2019). CCl_4 dalam tubuh akan memicu produksi radikal bebas penyebab peroksidasi lipid serta peningkatan sekresi sitokin proinflamasi sehingga respon inflamasi meningkat yang salah satunya ditandai dengan peningkatan jumlah neutrofil dan akhirnya akan mengakibatkan kerusakan sel hepatosit (Choudhury *et al.*, 2016; Noor *et al.*, 2017; Popovi *et al.*, 2019). Kerusakan tersebut dapat dinetralkan oleh efek hepatoprotektor pada daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) yang dimediasi oleh antioksidan dan antiinflamasi karena memiliki senyawa flavonoid. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa flavonoid pada ekstrak metanol daun jambu biji dapat menurunkan kadar berbagai enzim penanda kerusakan hati seperti *alkaline phosphatase* (ALP), *alanine transaminase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), dan kadar bilirubin pada hepar tikus yang diinduksi CCl_4 (Dewi *et al.*, 2014; Anand *et al.*, 2016; Blezeinsky *et al.*, 2019), namun penelitian menggunakan air rebusan daun jambu biji sebagai antiinflamasi dalam memperbaiki kerusakan hepar terhadap parameter jumlah neutrofil belum banyak dilakukan.

Fibrosis hati umumnya disebabkan oleh penyakit hati kronis diantaranya hepatitis B dan C, serta penyakit perlemakan hati non alkoholik atau *non-alkoholic fatty liver disease* (NAFLD). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI) 2024 menyebutkan bahwa prevalensi NAFLD cukup tinggi yaitu sekitar 30,6% yang terjadi akibat peningkatan kasus obesitas, diabetes melitus, dan dislipidemia. Transplantasi hati salah satu dari banyak usaha yang dilakukan untuk menghambat perkembangan NAFLD. *National Health Service United Kingdom* (NHS UK) 2021 menyatakan bahwa risiko transplantasi hati seperti reaksi penolakan jaringan masih tinggi yaitu terjadi pada 30 dari 100 pasien sehingga penelitian ini penting untuk dilakukan.

Fibrosis hati akibat paparan CCl_4 menyebabkan radikal bebas tidak stabil karena hilangnya atom hidrogen (H) dalam tubuh (Popovi *et al.*, 2019). Penelitian Panjaitan *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa dosis CCl_4 0,1 ml/kgBB dapat menyebabkan kerusakan sel hepatosit yang ditandai dengan adanya degenerasi dan nekrosis secara multifokal. Penggunaan flavonoid pada daun jambu biji di sisi lain bisa menghambat kerusakan sel hepatosit karena flavonoid memiliki gugus hidroksil (OH) dan atom H yang dapat menangkap dan menstabilkan radikal bebas (Dewi *et al.*, 2014; Putri *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa flavonoid dalam ekstrak daun *Carica pubescens* dengan dosis 100 mg/kgBB dapat menghambat sintesis *eicosanoid* sehingga kandungan asam arakhidonat menurun yang

mengakibatkan terhambatnya pelepasan mediator inflamasi (Blezeinsky, Gumay and Hardian, 2019). Penelitian Suryadinata *et al.*, (2022) membuktikan bahwa flavonoid dalam rebusan akar terung pipit dengan dosis 1,5 mg/grBB/hari dapat menghambat *cyclooxygenase-2* (COX-2) kontributor sintesis prostaglandin selaku induktor inflamasi sehingga proses inflamasi mengalami penurunan. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa flavonoid dalam air rebusan daun jambu biji dengan dosis 20 dan 25 lembar efektif memperbaiki kerusakan sel hepatosit (Prasetyo and Surati, 2023).

Uraian latar belakang yang telah diutarakan mendorong perlunya penelitian tentang pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

1.2. Perumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang

diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Mengetahui perbedaan rerata jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
2. Mengetahui perbedaan rerata jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok perlakuan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil dari penelitian dimaksudkan agar bisa digunakan sebagai referensi dan dasar studi lanjut tentang pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) terhadap jumlah neutrofil pada hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

1.4.2. Manfaat Praktis

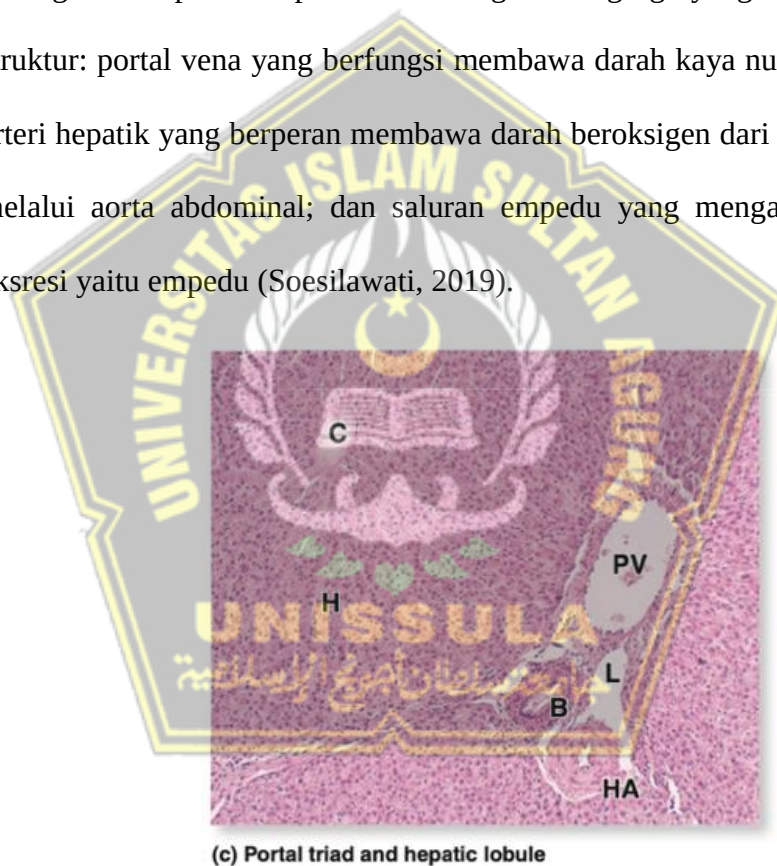
Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar ilmiah oleh komunitas untuk memanfaatkan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) sebagai hepatoprotektor yang bisa diterapkan dalam keseharian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Histologi Hepar

Lobulus hepar merupakan komponen terbesar dari hepar yang berbentuk heksagonal dengan pusatnya yaitu vena centralis. Pada tiap sudut heksagon terdapat triad portal atau bangunan segitiga yang terdiri atas tiga struktur: portal vena yang berfungsi membawa darah kaya nutrisi dari usus; arteri hepatic yang berperan membawa darah beroksigen dari batang seliak melalui aorta abdominal; dan saluran empedu yang mengalirkan produk ekskresi yaitu empedu (Soesilawati, 2019).

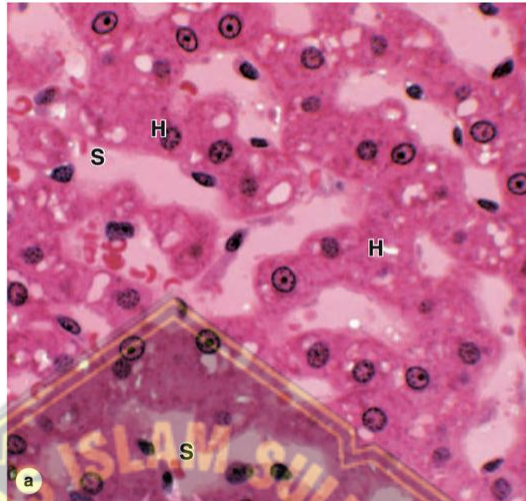


Gambar 2.1. Lobulus hati manusia

C : vena centralis; H : sel hepatosit; L : limfatik; PV : vena porta; HA : arteri hepatica; B : duktus biliaris. Perbesaran 220x. Pewarnaan H&E (Mescher, 2018).

Lobulus hepar yang dipotong secara transversal akan tampak struktur berjejer dan radier berpusat pada vena centralis dengan sinusoid sebagai pemisah. Sinusoid mengandung sel kuppfer yang berperan untuk

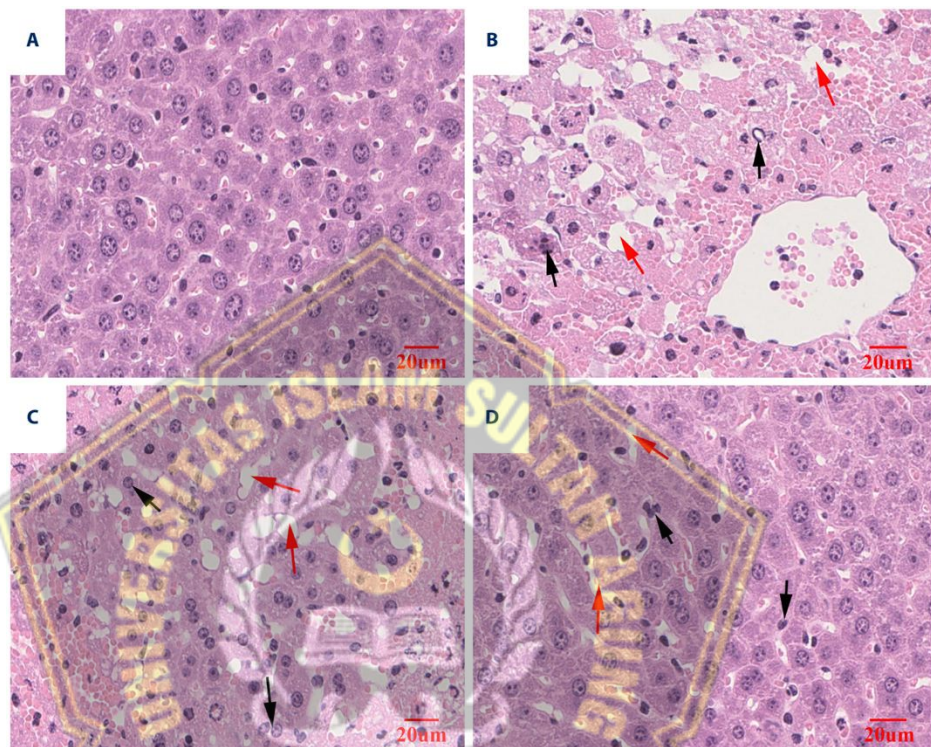
memfagosit senescen eritrosit, haemoglobin serta mensekresi protein yang terkait dengan sitokin (Soesilawati, 2019).



Gambar 2.2. Hepar normal
H : sel hepatosit ; S : sinusoid. Perbesaran 400x Pewarnaan H&E
(Mescher, 2018).

Lobulus hepar juga tersusun atas sel-sel hepatosit atau organel yang mengandung sejumlah besar retikulum endoplasma (RE) meliputi RE kasar dan halus. Organel tersebut berperan pada proses oksidasi, metilasi serta konjugasi yang berkontribusi menginaktivasi atau penawar zat toksin dari berbagai zat sebelum diekskresi. RE kasar berperan dalam sintesis protein plasma dan lebih sering muncul secara jelas pada sel hepatosit yang terletak dekat dengan area portal. RE halus adalah organel penting di lipatan protein yang berada dekat area portal. RE halus berperan mengikat molekul yang melekat pada sel hepatosit. Sel hepatosit juga tersusun atas glikogen ultrastruktural berbentuk granul penuh dengan elektron kasar dan terakumulasi di sitosol berdekatan dengan RE halus. Sel hepatosit memiliki 50 buah badan golgi untuk tiap selnya. Badan golgi tersebut berfungsi

membentuk lisosom dan mensekresi glikoprotein, lipoprotein dan protein di plasma. Lisosom sel hepatosit berperan sangat penting pada pertukaran dan degenerasi organel intrasel (Mescher, 2018).



Gambar 2.3. Hepar tikus yang diinduksi CCl_4 dan efek quercetin.
 A : Tikus kontrol. B : Tikus yang diinduksi CCl_4 . C: Tikus yang diobati dengan dosis 60 mg/kg. D : Tikus yang diobati dengan dosis 120 mg/kg.
 Panah merah : vakuola. Panah hitam : Agregat sel inflamasi. Perbesaran 100x. Pewarnaan H&E (Lin *et al.*, 2020)

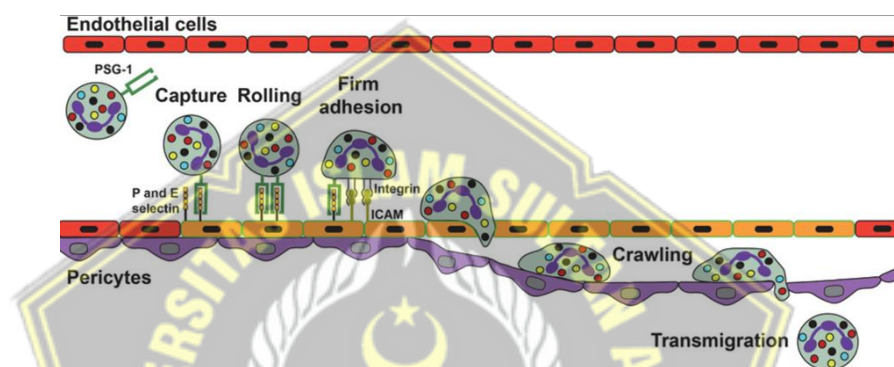
Sel-sel hepatosit tergolong mudah rusak karena memiliki aktivitas tinggi, namun mudah terbarui melalui mitosis. Sel hepatosit yang rusak dicirikan oleh edema seluler dan atrofi yang terjadi akibat terhambatnya mitosis. Edema pada sel hepatosit dikenal sebagai perubahan degeneratif dengan sifat reversibel jika dilakukan eliminasi penyebab kerusakan (Dewi *et al.*, 2009). Penyebab kerusakan sel hepatosit salah satunya adalah paparan

zat kimia seperti karbon tetraklorida (CCl_4). Penelitian (Lin *et al.*, 2020) menyatakan bahwa quercetin pada obat tradisional *Anoectochilus roxburghii* dapat memperbaiki kerusakan sel hepatosit yang diakibatkan oleh induksi CCl_4 terbukti dengan adanya perubahan pada gambaran histopatologi (Gambar 2.3). Tikus kontrol normal menunjukkan struktur lobular hati yang normal, dengan bundel sel hati yang memancar dari vena sentral (Gambar 2.3 A). Induksi CCl_4 menyebabkan pembengkakan sel hepatosit di lobus tengah hati, vakuolisasi sitoplasma yang tinggi, area nekrosis sel yang luas, dan infiltrasi sel mononuklear yang masif (Gambar 2.3 B). Quercetin dosis 60 mg/kg sedikit mengurangi area cedera, sel nekrotik, dan infiltrasi inflamasi (Gambar 2.3 C), sedangkan quercetin dosis 120 mg/kg menunjukkan perbaikan signifikan dalam struktur seluler, pengurangan signifikan infiltrasi sel inflamasi, dan hilangnya plak hepatosit nekrotik (Gambar 2.3 D).

2.2. Neutrofil

Neutrofil merupakan leukosit polimorfonuklear dan granular yang berfungsi sebagai bagian penting dari sistem imun bawaan. Neutrofil pada manusia sekitar 50-70% dari seluruh leukosit yang bersirkulasi, sedangkan pada tikus hanya 10-25% (Rosales, 2020). Neutrofil memiliki umur yang pendek dengan waktu paruh sekitar 6-7 jam serta memiliki rentang hidup selama 1-4 hari (Mescher, 2018). Neutrofil diproduksi di sumsum tulang dan kemudian dilepaskan ke pembuluh darah. Neutrofil di pembuluh darah bersifat inaktif, teraktivasi hanya jika ada sinyal dari sitokin atau kemokin

yang sekaligus juga ikut membantu perekrutan neutrofil ke lokasi infeksi (Avci *et al.*, 2015). Neutrofil dapat dengan cepat bermigrasi dari pembuluh darah menuju tempat infeksi lewat peristiwa yang dikenal sebagai kaskade adhesi leukosit. Pada jaringan yang terinfeksi, neutrofil akan menjalankan fungsinya. Akhirnya, neutrofil mati melalui apoptosis dan dieliminasi oleh makrofag (Rosales, 2020).



Gambar 2.4. Kaskade Adhesi Neutrofil
(Rosales, 2020)

Menurut Rosales, (2020) neutrofil yang bersirkulasi dengan cepat merespons sinyal inflamasi dan dimobilisasi ke tempat infeksi atau kerusakan jaringan. Migrasi neutrofil berlangsung melalui proses terkontrol secara sistematis yang dikenal dengan kaskade adhesi leukosit. Proses ini melibatkan beberapa langkah dimulai dengan adhesi ke sel endotel, migrasi intravascular, ekstrasvasasi, dan migrasi ke interstitium. Proses ini dimulai ketika sel endotel diaktifkan dan meningkatkan regulasi ekspresi reseptor adhesi seperti selektin E dan P. Neutrofil mengikat selektin tersebut dengan ligan spesifik seperti PSG-1 dan mulai berpindah ke sel endotel. Kemudian, neutrofil diaktivasi oleh kemokin yang mengakibatkan aktivasi integrin, yang berikatan dengan ligan adhesi sel seperti ICAM pada sel endotel.

Interaksi integrin memungkinkan adhesi kuat yang membuat neutrofil berhenti total. Selanjutnya, neutrofil merangkak keluar dari endotel dan bergerak sepanjang membran basal endotel hingga menemukan celah kecil antara perisit dan bertransmigrasi ke jaringan yang terinfeksi.

2.2.1. Faktor yang Mempengaruhi Jumlah Neutrofil

Menurut Newburger *et al.* (2013) terdapat beberapa kondisi yang dapat memengaruhi penurunan jumlah neutrofil diantaranya :

- Infeksi, seperti cacar air atau terinfeksi varicella-zoster virus, terinfeksi epstein-barr virus, terinfeksi virus penyebab hepatitis A, B, dan C, infeksi HIV/AIDS, campak, terinfeksi bakteri salmonella, dan mengalami sepsis.
- Penggunaan obat
 1. Penggunaan obat untuk tiroid dalam intensitas tinggi misalnya metimazol (tapazole) dan propiltiourasil
 2. Penggunaan antibiotik tertentu misalnya vankomisin (Vancocin), penisilin G, dan oksasilin
 3. Penggunaan obat antivirus misalnya gansiklovir (Cytovene) dan valgansiklovir (Valcyte)
 4. Penggunaan obat antiinflamasi pada kasus kolitis ulserativ atau artritis rematik seperti sulfasalazin (Azulfidine)
 5. Penggunaan berbagai obat antispikotik misalnya klozapin (Clozaril, Fazaclo) dan klorpromazin.
 6. Penggunaan obat untuk kontrol irama jantung misalnya

kuinidin dan prokainamid

7. Levamisole

- Penyakit autoimun, seperti granulomatosis dengan poliangitis (Wegener's granulomatosis), penyakit lupus, dan artritis reumatik.
- Penyakit sumsum tulang, seperti anemia aplastik, sindrom mielodisplastik, dan mielofibrosis.
- Kemoterapi

Menurut Mayoclinic, (2020) terdapat beberapa kondisi yang berpengaruh pada peningkatan jumlah neutrofil diantaranya :

- Stress atau olahraga berat
- Inflamasi
- Merokok
- Kehamilan
- Myeloproliferative Neoplasma
- Nekrosis

2.3. Tanaman Jambu Biji

2.3.1. Morfologi

Menurut Rochmasari, (2011) tanaman jambu biji merupakan tanaman perdu atau pohon kecil dengan tinggi sekitar 4-10 meter. Tanaman ini memiliki batang bercabang, berwarna coklat kemerahan, dan permukaan licin dengan lapisan kulit tipis yang mudah terkelupas. Sistem akar dari tanaman ini adalah akar

tunggang (*radix primaria*). Akarnya bercabang (*ramosus*) tumbuh lurus kebawah dan berbentuk kerucut panjang. Bunga bertangkai dan tunggal terletak di ketiak daun. Buah tanaman ini memiliki tipe buah tunggal dan termasuk buah *berry* atau disebut juga dengan buni. Termasuk dalam buah sejati tunggal yang berdaging dan berbiji banyak. Lapisan luar buah tipis dan sedikit kaku, sedangkan lapisan dalam tebal, konsistensi lunak, dan berair. Apabila daging buah matang akan berwarna kemerahan.

Menurut Tsukaya, (2005) daun pada tanaman ini memiliki struktur daun tunggal, bersilangan dengan letak daun berhadapan, permukaan daun berkerut (*rugosus*), dan pertulangan daun menyirip (*penninervis*) dengan warna hijau kekuningan. Bentuk daun didominasi oleh bentuk lonjong. Tepi daun rata (*integer*), ujung meruncing (*acutus*), panjang sekitar 6-14 cm dengan lebar 3-6 cm (Rochmasari, 2011).

2.3.2. Manfaat dan Kandungan Daun Jambu Biji

Daun jambu biji telah diteliti memiliki banyak efek farmakologis meliputi analgesik, antibakteri, antibatuk, antidiabetes, antidiare, antihipertensi, antiinflamasi, antioksidan, antiplak gigi, antitumor, dan hepatoprotektif (Rochmasari, 2011).

Daun jambu biji mengandung senyawa seperti saponin, tanin, dan flavonoid (Faradilla *et al.*, 2023). Flavonoid memiliki sifat sebagai hepatoprotektor, yaitu dapat melindungi sel hati dan

memperbaiki kerusakan jaringan hati akibat paparan zat toksik (Adilla *et al.*, 2023). Flavonoid juga memiliki peran dalam penghambatan inflamasi melalui inhibisi aktifitas enzim *cyclooxygenase* (COX) dan *lipooksigenase*, inhibisi degranulasi neutrofil sehingga eksresi sitokin, radikal bebas dan enzim-enzim terkait inflamasi ikut terhambat (Blezeinsky *et al.*, 2019) .

2.4. Pembuatan Model Fibrosis Hati

2.4.1. Induksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan senyawa kimia toksik yang banyak ditemukan pada industri pendingin, alat pemadam kebakaran, pestisida, cat, dan tinta (Santoso *et al.*, 2016; Amin *et al.*, 2023). Sifat toksik CCl₄ dapat berperan sebagai pelarut lipid sehingga memudahkan senyawa ini menembus membran sel dan kemudian akan terdistribusi ke berbagai organ termasuk sistem saraf pusat, hati, ginjal, dan peredaran darah meskipun dengan dosis yang sangat sedikit (Maulina, 2018). CCl₄ akan disuntikkan secara intraperitoneal ke hewan coba dan akan memberikan efek fibrosis hati.

Kerusakan hepar akibat induksi CCl₄ akan menstimulasi respon inflamasi berupa aktivasi sel kuppfer. Sel kuppfer akan mensekresikan *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF-β) sehingga menyebabkan *Hepatic Stellate Cell* (HSC) teraktivasi dan berdiferensiasi menjadi myofibroblast untuk mensekresikan matriks

ekstraseluler (Mormone, George *et al.*, 2011). Akumulasi matriks ekstraseluler seperti kolagen akan secara langsung menyebabkan terjadinya fibrosis hati (Böttcher *et al.*, 2017).

2.5. Mekanisme Hepatotoksisitas yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)

Mekanisme kerusakan hepar akibat efek toksik dari CCl₄ yaitu dengan cara CCl₄ yang terakumulasi di hepar akan dikatalisis oleh enzim sitokrom P-450 (CYP-450) di retikulum endoplasma kemudian mengalami biotransformasi menjadi radikal triklorometil (CCl₃) yang reaktif (Maulina, 2018). CCl₃ kemudian berikatan dengan oksigen menghasilkan radikal triklorometil peroksi (CCl₃O₂) yang sangat reaktif (Krisnansari *et al.*, 2014; Popovi *et al.*, 2019).

Karbon tetraklorida (CCl₄) menyebabkan mekanisme hepatotoksik mengalami tiga fase yaitu stress oksidatif, peroksidasi lipid, dan inflamasi. Pada fase stress oksidatif, CCl₄ mengakibatkan kerusakan hepar dengan cara penipisan dan penurunan fungsi dalam pertahanan antioksidan dan menjadi penanda pro-oksidatif mengalami peningkatan. Pada fase peroksidasi lipid, CCl₃ menyerang membran lipid yang berada dalam retikulum endoplasma, *malondialdehyde* (MDA) akan dikeluarkan secara cepat yang mengakibatkan kerusakan bentuk dan fungsi sel hepatosit sehingga mengalami kebocoran. CCl₃ juga menghilangkan atom hidrogen (H) dari asam lemak tak jenuh sehingga menjadi hancur. Pada fase inflamasi, CCl₄ mengakibatkan sistem imun teraktivasi sehingga sel kupffer mengalami

hiperplasia. Sel kupffer akan mengeluarkan zat-zat berbahaya yang sifatnya proinflamasi sehingga sel parenkim hepar lama-lama menjadi rusak (Li *et al.*, 2010; Krisnansari *et al.*, 2014; Popovi *et al.*, 2019).

Radikal triklorometil (CCl_3) juga akan memicu sekresi berbagai sitokin proinflamasi seperti interleukin- (IL-) 1, IL-6, IL-8, dan *tumor necrosis factor-alpha* ($\text{TNF-}\alpha$). Sitokin tersebut dapat mengakibatkan infiltrasi neutrofil, memperparah respon inflamasi, dan terakhir akan mengakibatkan cedera sel hati (Choudhury *et al.*, 2016; Noor *et al.*, 2017).

2.6. Pengaruh Air Rebusan Daun Jambu Biji Terhadap Jumlah Neutrofil pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl_4

Karbon tetraklorida (CCl_4) sebagai penghasil radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya stress oksidatif (Wigati *et al.*, 2016). Stress oksidatif juga dapat terjadi apabila produksi *reactive oxygen species* (ROS) tak terkontrol atau ada di konsentrasi yang tinggi. Pada keadaan normal, ROS berperan esensial pada sinyal intraselar, mengekspresikan gen, dan bermacam fungsi fisiologis. ROS dalam jumlah besar dihasilkan oleh neutrofil dan makrofag, namun dihasilkan dalam jumlah tertentu oleh fibroblas dan sel endotel (Wlaschek *et al.*, 2005). ROS di awal infeksi diinisiasi oleh platelet, produksi ROS tersebut dimaksudkan untuk perekrutan platelet tambahan ke lokasi infeksi atau ke lokasi dimana terjadi kerusakan jaringan. Leukosit juga ikut bermigrasi ke lokasi infeksi karena terstimulasi oleh respon imun. Leukosit kemudian mengaktifasi neutrofil untuk berperan sebagai fagosit yang ditujukan agar terbentuk agen

sitotoksik yang dapat digunakan untuk menghambat perluasan infeksi dan menghilangkan sel yang rusak. ROS juga menjadi produk sampingan dari proses fagositosis tersebut (Rao *et al.*, 2011). Produksi ROS yang berkelanjutan berefek pada stres oksidatif yang selanjutnya berdampak pada kerusakan sel dan jaringan, juga deplesi elektron pada sel normal sehingga mengalami apoptosis ataupun nekrosis. Radikal bebas juga akan memicu sekresi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8 dan TNF- α . Sitokin ini akan meningkatkan respon inflamasi sehingga jumlah neutrofil tinggi (Choudhury *et al.*, 2016; Noor *et al.*, 2017). Oleh karena itu, diperlukan antioksidan untuk menekan terjadinya stress oksidatif.

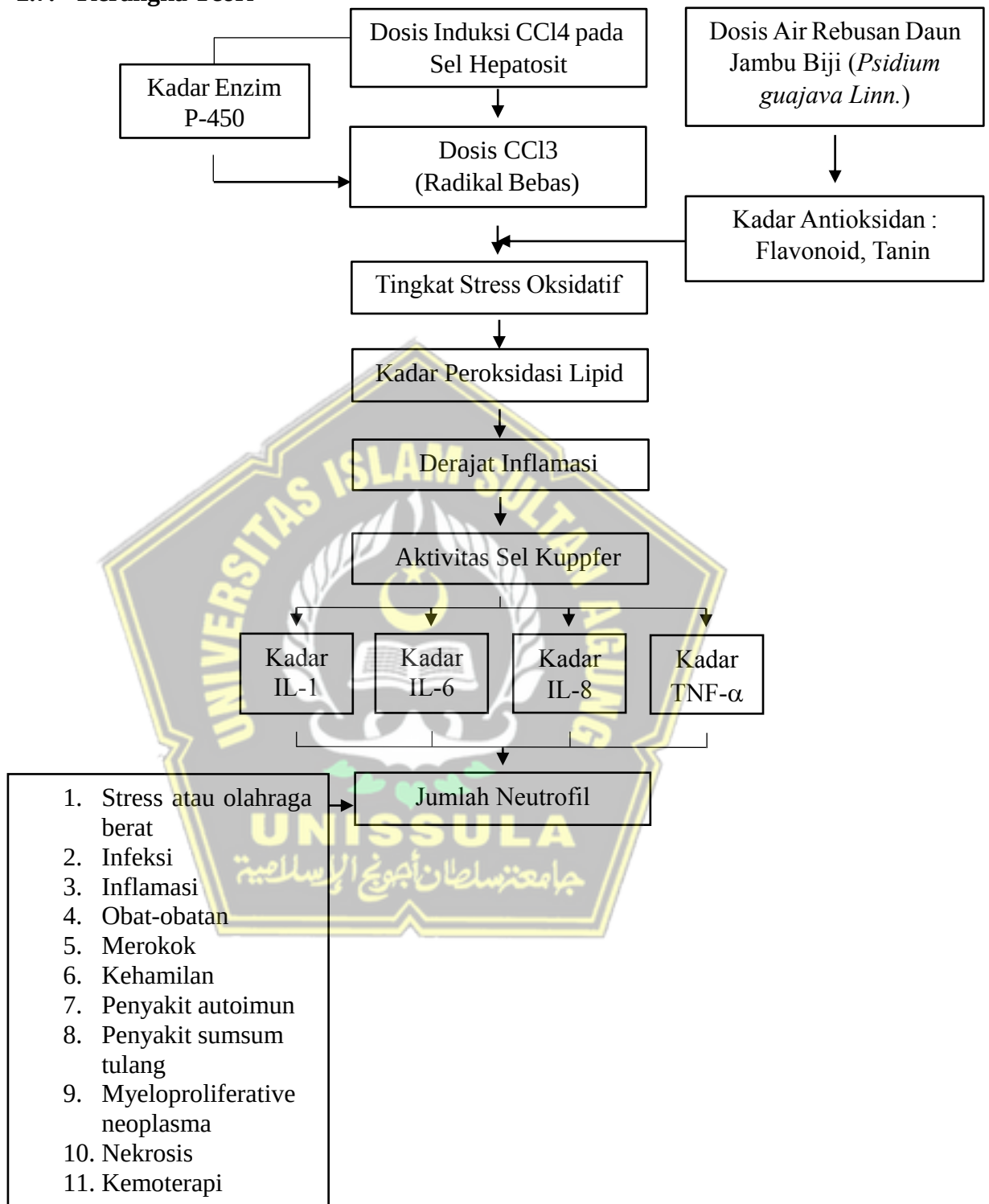
Antioksidan tersedia secara endogen dalam tubuh sebagai lini pertama pertahanan dari serangan radikal bebas. Antioksidan endogen tersebut diantaranya yaitu enzim *superoxide dismutase* (SOD) yang berperan mencegah stres oksidatif melalui perubahan radikal superoksida menjadi hidrogen peroksida (H₂O₂) dan oksigen (O₂). Pengukuran aktivitas enzim SOD dapat merepresentasi kadar radikal bebas dan kondisi stres oksidatif di tubuh.

Antioksidan endogen tidak selalu mampu menghadapi serangan radikal bebas karena jumlahnya yang terbatas sehingga dibutuhkan asupan antioksidan dari luar atau antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen dimaksudkan untuk melawan dampak negatif ROS (Ardhie, 2011). Contoh jenis antioksidan eksogen antara lain carotenoid, fenol, flavonoid, dan tanin yang mempunyai pengaruh positif dan mekanisme aksi beragam (Mandal *et*

al., 2009). Penelitian oleh (Sari *et al.*, 2021; Adilla *et al.*, 2023) melaporkan bahwa daun jambu biji mengandung flavonoid dan tanin. Flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P-450 (CYP 450) (Quintieri *et al.*, 2011). Flavonoid sebagai antioksidan yang mempunyai senyawa hidroksil (OH-) untuk menangkap radikal bebas (Dewi *et al.*, 2014). Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan primer dengan cara memberikan atom hidrogen (H) ke radikal peroksi lipid menjadi lebih stabil. Senyawa antioksidan lain seperti tanin memiliki gugus OH- sehingga dapat menangkap radikal bebas dengan memberikan atom H yang membuat radikal bebas menjadi lebih stabil (Putri *et al.*, 2021).

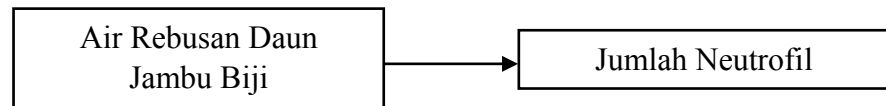


2.7. Kerangka Teori



Gambar 2.5. Kerangka Teori

2.8. Kerangka Konsep



Gambar 2.6. Kerangka Konsep

2.9. Hipotesis

Pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) berpengaruh terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

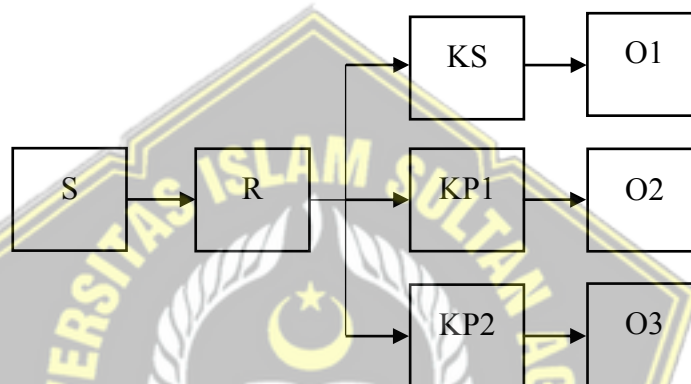


BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental menggunakan rancangan penelitian *posttest only control group design*.



Gambar 3.1. Bagan Rancangan Penelitian.

S : sampel; R : randomisasi; KS : kelompok kontrol negatif;
KP1 : kelompok perlakuan 1; KP2 : kelompok perlakuan 2;
O1 : pengamatan hasil KS; O2 : pengamatan hasil KP1;
O3 : pengamatan hasil KP2

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1 Variabel Bebas

Dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.).

3.2.1.2 Variabel Tergantung

Jumlah neutrofil

3.2.2. Definisi Operasional Variabel

3.2.2.1. Dosis Air Rebusan Daun Jambu Biji

Air rebusan daun jambu biji diperoleh dengan cara merebus sebanyak 20 dan 25 lembar daun jambu biji dalam air masing-masing sebanyak 600 ml selama 20 menit pada suhu 80°C sampai tersisa 200 ml. Pemberian air rebusan daun jambu biji selama empat hari secara per oral menggunakan sonde dengan dosis 1 ml diberikan 2 kali sehari pada pagi dan sore hari selama 7 hari. Rebusan daun jambu biji diulang setiap hari selama penelitian.

Skala data : Rasio

3.2.2.2. Jumlah Neutrofil

Perhitungan jumlah neutrofil diukur menggunakan sampel jaringan hepar tikus yang diberi pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Perhitungan jumlah neutrofil yang teridentifikasi dijumlah dan dihitung rata-ratanya dengan satuan jumlah/5 lapang pandang.

Skala data : Rasio

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus*

norvegicus) berusia 6-8 minggu dengan berat 200 gram dalam keadaan sehat dan aktif serta tidak memiliki kecacatan fisik. Tikus dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta diberi pakan standar dan aquades *ad libitum*.

3.3.2. Sampel Penelitian

Perkiraan jumlah sampel minimal untuk penelitian ini didapat dari rumus Federer dengan jumlah kelompok yaitu 3 kelompok perlakuan.

Rumus Federer : $(t-1)(n-1) \geq 15$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah subyek tiap kelompok

Banyak kelompok : 3 kelompok

: $(t-1)(n-1) \geq 15$

: $(3-1)(n-1) \geq 15$

: $(2)(n-1) \geq 15$

: $2n-2 \geq 15$

: $n \geq (15+2)/2$

: $n \geq 8,5$

Setiap kelompok tikus jantan galur wistar yang digunakan 9 sampel, maka dari itu jumlah sampel penelitian ini adalah 27 ekor tikus, dan sebagai antisipasi drop out ditambahkan 1 ekor tikus untuk tiap kelompok sebagai cadangan sehingga total jumlah tikus yang

digunakan sebanyak 30 ekor.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian ini diantaranya kandang tikus, timbangan, sonde, spuit 2 cc, gelas ukur, pengaduk, gunting, mikroskop cahaya, object glass, deck glass, dan kamera digital.

3.4.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan untuk penelitian ini diantaranya daun jambu biji 20 dan 25 lembar, karbon tetraklorida (CCl_4) 0,1 ml/100grBB, pewarna hematoxylin, larutan eosin, formalin 10%, larutan lithium bikarbonat, alkohol, tikus jantan galur wistar, pakan standar, dan aquades.

3.5. Cara Melakukan Penelitian

3.5.1. Pengajuan *Ethical Clearance*

Ethical Clearance penelitian ini diajukan ke Komisi Bioetik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3.5.2. Pembuatan Air Rebusan Daun Jambu Biji

1. Air direbus sebanyak 600 ml dengan suhu 80°C dan masukkan 20 lembar daun jambu biji untuk dosis pertama.
2. Air direbus sebanyak 600 ml dengan suhu 80°C dan masukkan

25 lembar daun jambu biji untuk dosis kedua.

3. Setelah mendidih dan air tersisa sebanyak 200 ml, daun jambu biji dipisahkan dengan hasil air rebusan kemudian letakkan dosis pertama dan kedua pada wadah yang berbeda. Air rebusan daun jambu biji diberikan sebanyak 1 ml untuk 2 kali pemberian.
4. Rebusan daun jambu biji diulang dengan cara yang sama setiap hari selama penelitian dan dilakukan uji total flavonoid pada air rebusan daun jambu biji.

3.5.3. Pemeliharaan dan Perlakuan Hewan Coba

Tikus jantan galur wistar diperoleh di peternakan berjumlah 27 ekor kemudian dibagi menjadi tiga kelompok. Tikus diberi pakan standar serta aquades *ad libitum* selama penelitian.

3.5.4. Induksi pada Tikus

1. KS : kelompok kontrol negatif, tikus jantan galur wistar yang diberi pakan standar dan aquades *ad libitum* serta diinduksi CCl_4 0,1 ml/100grBB.
2. KP1 : kelompok perlakuan I, tikus jantan galur wistar yang diberi pakan standar dan aquades *ad libitum*, diinduksi CCl_4 0,1 ml/100grBB, dan mendapatkan 1 ml air rebusan 20 lembar daun jambu biji.
3. KP2 : kelompok perlakuan II, tikus jantan galur wistar yang

diberi pakan standar dan aquades *ad libitum*, diinduksi CCl₄ 0,1 ml/100grBB, dan mendapatkan 1 ml air rebusan 25 lembar daun jambu biji.

3.5.5. Pemeriksaan Histopatologi Hepar

Jumlah neutrofil dapat dinilai melalui pemeriksaan mikroskopis dengan perbesaran 400x pada preparat hepar dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE).

3.5.6. Pembuatan, Pewarnaan, dan Pengamatan Preparat

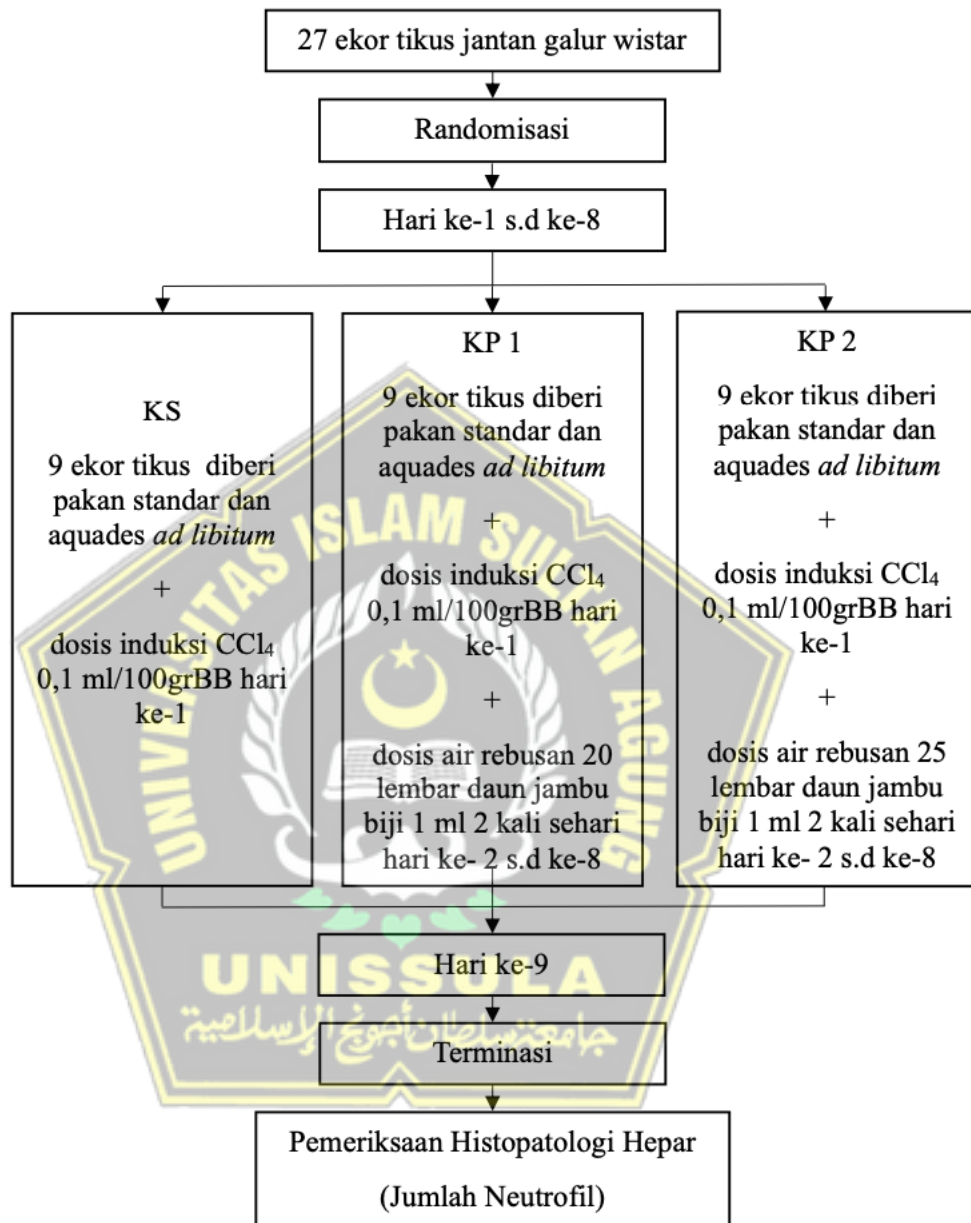
1. Jaringan hepar diambil sekitar 1 mm³ kemudian difiksasi dengan formalin 10% sampai terfiksasi seluruhnya dan keringkan
2. Preparat yang sudah kering, dimasukkan ke dalam pewarnaan hematoxylin dan didiamkan selama 3-5 menit lalu dicuci dengan air mengalir
3. Preparat yang sudah terwarnai diberi larutan HCl lalu dicuci dengan air mengalir
4. Preparat dimasukkan kedalam larutan lithium bikarbonat selama 1-2 menit dan dicuci dengan air mengalir
5. Preparat diberi larutan eosin selama 1-3 menit lalu bilas dengan alkohol
6. Preparat ditutup dengan kaca penutup dan beri label
7. Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 400x dan hitung jumlah neutrofil perlapang pandang

3.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada bulan Agustus hingga September 2024.



3.7. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.8. Analisis Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan *software Statistical Product and Service Solution* (SPSS) versi 27. Data yang diperoleh akan diuji dengan uji *Saphiro-Wilk* dan uji *Lavene* untuk mengetahui normalitas persebaran dan homogenitas data serta karena jumlah sampel ≤ 50 . Dilanjutkan uji parametrik dan non parametrik yaitu *One Way ANOVA* atau uji *Kruskal-Wallis* dilanjut uji beda menggunakan uji *post hoc Mann-Whitney*. Apabila hasil uji statistik didapatkan hasil ($p < 0,05$) maka hipotesis kerja diterima dan hipotesis nihil ditolak sedangkan didapatkan hasil ($p > 0,05$) maka hipotesis kerja ditolak dan hipotesis nihil diterima.



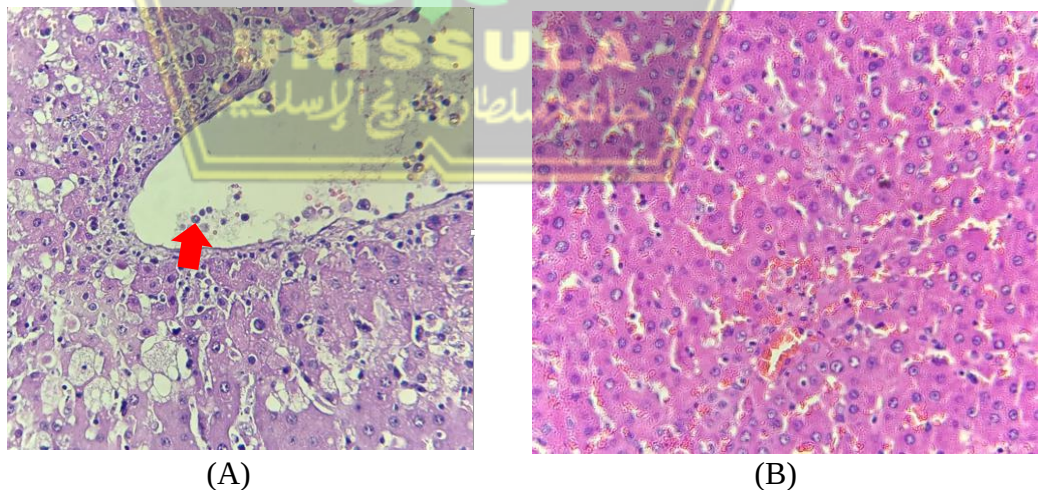
BAB IV

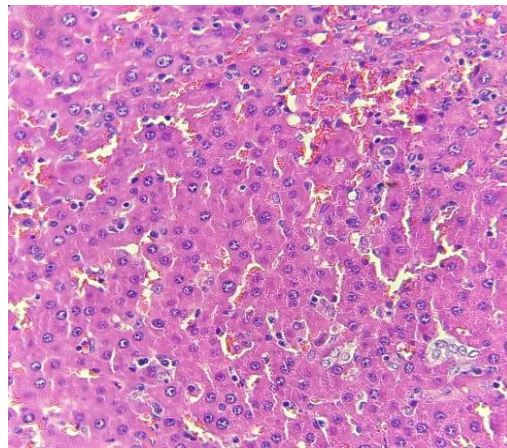
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini mengamati jumlah neutrofil pada 27 ekor tikus jantan galur Wistar yang telah dibagi kedalam 3 kelompok dan tiap kelompok dilakukan induksi CCL₄ 0,1 ml/100 grBB. Tiga kelompok tersebut meliputi KS yaitu kelompok yang diberikan pakan standar dan aquades *ad libitum*, KP1 yaitu kelompok yang diberikan pakan standar dan aquades *ad libitum* serta air rebusan 20 lembar daun jambu biji, dan KP2 yaitu kelompok yang diberikan pakan standar dan aquades *ad libitum* serta air rebusan 25 lembar daun jambu biji.

Hasil pengamatan jumlah neutrofil pada pemeriksaan histopatologi dapat diamati pada gambar berikut:





(C)

Gambar 4.1. Hasil Pemeriksaan Histopatologi.

A : Kelompok Kontrol Negatif (KS); B : Kelompok Perlakuan 1 (KP1); C : Kelompok Perlakuan 2 (KP2); Panah Merah : neutrofil; Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE); Perbesaran 400x.

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa neutrofil hanya didapatkan pada kelompok KS yang ditunjukkan dengan panah merah, sedangkan pada kelompok KP1 dan KP2 tidak didapatkan adanya neutrofil.

4.1.1. Deskripsi Data

Hasil analisis deskripsi data jumlah neutrofil antar kelompok ditunjukkan sebagai berikut:

Tabel 4.1. Deskripsi Jumlah Neutrofil Antar Kelompok

Kelompok	Jumlah Neutrofil	
	Mean $\pm$ SD	Median (min – maks)
KS	2,33 $\pm$ 1,41	2 (0 – 4)
KP1	0,00 $\pm$ 0,00	0
KP2	0,00 $\pm$ 0,00	0

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa neutrofil hanya ditemukan pada kelompok KS yang berkisar antara 0 – 4 sel dengan median 2 sel dan rerata 2,33 $\pm$ 1,41 sel, sedangkan pada dua kelompok perlakuan lainnya tidak ditemukan neutrofil.

4.1.2. Distribusi Data

Hasil analisis distribusi data jumlah neutrofil antar kelompok ditunjukkan sebagai berikut:

Tabel 4.2. Hasil Uji Normalitas Distribusi dan Homogenitas Varian Data Jumlah Neutrofil Antar Kelompok

Kelompok	<i>p-value</i>	
	Uji normalitas	Uji Homogenitas
KS	0,113*	<0,001
KP1	<0,001	
KP2	<0,001	

Keterangan: *: sebaran data normal (*p-value shapiro wilk* >0,05)

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa distribusi data neutrofil yang normal hanya terdapat pada kelompok KS dengan nilai *p* dari uji *Shapiro Wilk* sebesar 0,113 (*p*>0,05), sedangkan pada kelompok KP1 dan KP2 tidak berdistribusi normal karena nilai *p*<0,05. Hasil pengujian homogenitas varian dengan uji *Lavene* didapatkan nilai *p*<0,001 menunjukkan bahwa varian data jumlah neutrofil antar ketiga kelompok tidak homogen.

4.1.3. Uji Bivariat

Tabel 4.3. Hasil Uji *Kruskal Wallis* Perbedaan Jumlah Neutrofil Antar Kelompok

Variabel	Kelompok			<i>p-value</i>
	KS	KP1	KP2	
Jumlah neutrofil (sel)	2,33 ± 1,41	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	<0,001 [#]

Keterangan: #: perbedaan bermakna (*p-value* uji *Kruskal Wallis* <0,05)

Perbandingan jumlah neutrofil ketiga kelompok yang diuji dengan *Kruskal Wallis* dan didapatkan nilai $p < 0,001$ artinya perbedaan jumlah neutrofil di ketiga kelompok bermakna.

Tabel 4.4. Hasil Uji *Post Hoc Mann-Whitney* Perbandingan Rerata Jumlah Neutrofil Antar Dua Kelompok

Kelompok 1	Kelompok 2	Perbedaan rerata	<i>p-value</i>
KS	KP1	2,33	$<0,001^{\#}$
KS	KP2	2,33	$<0,001^{\#}$
KP1	KP2	0,00	1,000

Keterangan: $\#$ =perbedaan bermakna

Hasil analisis lebih lanjut perbandingan jumlah neutrofil antar dua kelompok dengan uji *post hoc Mann-Whitney* diperoleh nilai $p < 0,001$ antara KS dengan KP1 dan KP2 menunjukkan bahwa jumlah neutrofil di KS secara bermakna lebih tinggi daripada di KP1 dan KP2, sedangkan perbandingan jumlah neutrofil antara KP1 dan KP2 diperoleh nilai $p = 1,000$ menunjukkan bahwa jumlah neutrofil di kedua kelompok perlakuan tersebut serupa.

4.2. Pembahasan

Hasil penelitian ini didapatkan jumlah neutrofil di kelompok KS atau kelompok yang hanya diinduksi CCl_4 secara bermakna lebih tinggi daripada jumlah neutrofil di kelompok perlakuan air rebusan 20 lembar dan 25 lembar daun jambu biji. Hasil tersebut diduga bahwa induksi CCl_4 tersebut menghasilkan cedera hati karena CCl_4 merupakan polutan lingkungan yang berefek merusak serta bertindak sebagai toksik hepatik. Peningkatan efek toksik berasal dari pelepasan radikal bebas yang terdiri atas triklorometil (CCl_3) dan triklorometil peroksida (CCl_3O_2). Radikal bebas tersebut

menyebabkan peroksidasi lipid yang berakibat pada kerusakan membran sel, perubahan aktivitas enzim, dan menginduksi cedera hepatik serta nekrosis (El Sayed *et al.*, 2019). Kerusakan hati dapat dilihat dengan pengamatan kadar ALT, AST, ALP, serta kadar total bilirubin (Roy *et al.*, 2016). Efek induksi CCl₄ terhadap cedera atau kerusakan hati juga ditunjukkan pada penelitian Panjaitan *et al.* (2007) yang menyebutkan bahwa dosis CCl₄ 0,1 ml/kgBB dapat menyebabkan kerusakan sel hepatosit yang ditandai dengan keberadaan degenerasi dan nekrosis secara multifokal.

Neutrofil pada cedera hati keberadaannya juga ditunjukkan dalam penelitian Saijou *et al.* (2018) bahwa neutrofil terekrut secara cepat ke hati dalam model cedera hati akut dan memperburuk respons inflamasi, sedangkan pada cedera hati kronis melalui injeksi CCl₄ 1 ml/kgBB secara berulang dua kali per minggu selama 4 minggu neutrofil berperan sebagai antifibrotik. Penelitian ini menggunakan induksi CCl₄ dosis tunggal dalam dosis tunggal 0,1 ml/100 grBB sehingga cedera hati yang didapat bersifat akut.

Cedera hati akibat induksi CCl₄ terjadi melalui pengembangan jalur infiltrasi sel-sel inflamasi dan hiperplasia fibrotik di hati sebagai dasar toksisitas CCl₄. Induksi CCl₄ juga berdampak pada diferensiasi ekspresi protein dan gen terutama yang terlibat dalam proses oksidasi reduksi, respon terhadap stres oksidatif, pembentukan matriks ekstraseluler dan lain-lain, sedangkan jalur yang terlibat dalam fibrosis meliputi metabolisme Retinol, jalur pensinyalan PPAR, metabolisme asam arakidonat, glikolisis/

glukoneogenesis, dan metabolisme gliserolipid. Cedera kronis akibat induksi CCl_4 menyebabkan sel-sel stellata hepatic teraktivasi dan berproliferasi sehingga menyebabkan deposisi matriks ekstraselular yang dapat menggantikan hepatosit sehingga terbentuk jaringan parut dan fibrosis (Dong *et al.*, 2016). Induksi CCl_4 juga mengaktivasi sel Kupffer di hati oleh CCl_3 sehingga menginduksi inflamasi dengan cara memproduksi dan melepaskan berbagai mediator inflamasi (seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-1, IL-6, dan IL-8) dan menyebabkan kerusakan sel-sel parenkim hati atau cedera hati (Popović *et al.*, 2019).

Neutrofil selama cedera hati terekrut dengan cepat ke lokasi cedera untuk menjalankan serangkaian fungsi antibakteri seperti degranulasi, pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), fagositosis, dan pembentukan perangkap ekstraseluler neutrofil atau *Neutrophil Extracellular Trap* (NET) (Liu *et al.*, 2020). Neutrofil yang tertarik atau bermigrasi ke lokasi cedera melepaskan ROS dan protease yang selanjutnya dapat memperburuk kerusakan hati berupa nekrosis (Saijou *et al.*, 2018). Migrasi neutrofil ke pusat inflamasi dan lokasi cedera dilakukan oleh sel Kupffer melalui CXCL1, CXCL2, CXCL8. Aktivasi neutrofil yang mengakibatkan peningkatan aktivitas mieloperoksidase dalam homogenat hati dapat mengonfirmasi temuan morfologis infiltrasi inflamasi neutrofil di pusat cedera hati (Popović *et al.*, 2019).

Kelompok perlakuan yang diberikan air rebusan daun jambu sebanyak 20 dan 25 lembar (KP1 dan KP2) tidak menemukan keberadaan neutrofil

dan secara bermakna lebih rendah daripada kelompok KS. Hasil ini dapat menandakan bahwa air rebusan daun jambu berpengaruh menurunkan jumlah neutrofil pada tikus yang diinduksi CCl₄. Ketiadaan neutrofil pada jaringan hati dapat mencirikan perbaikan kerusakan hati akibat induksi CCl₄ atau proses penyembuhan cedera hati telah melewati fase inflamasi. Perbaikan cedera hati terjadi karena daun jambu biji kaya kandungan flavonoid. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa flavonoid daun jambu biji terdiri atas jenis *morin-3-O-lyxoside*, *morin-3-O-arabinoside*, *quercetin-3-O-arabinoside*, dan *quercetin* dengan kadar masing-masing sebesar 28,8 µg; 20,5 µg; 52,2 µg; dan 63,9 µg per gram daun segar (Rattanachaikunsopon *et al.*, 2010).

Mekanisme flavonoid dalam perbaikan cedera hati adalah melalui sifat antioksidan dan antiinflamasi, kedua sifat tersebut dapat mencegah terbentuknya radikal bebas dan menghambat inflamasi sehingga dapat meminimalisir kerusakan jaringan hati. Pada jalur penghambatan inflamasi, flavonoid terutama yang gugus flavon mengekspresikan aktivitas penghambatan inflamasi dengan cara memodulasi ekspresi gen-gen proinflamasi seperti COX-2, dan sintesis oksida nitrat (Husna *et al.*, 2022).

Sifat antiinflamasi dari flavonoid juga ditunjukkan dengan penghambatan aktivasi berlebihan sel Kupffer sehingga menurunkan jumlah neutrofil yang bermigrasi ke lokasi cedera atau pusat inflamasi (Popović *et al.*, 2019). Flavonoid sebagai antioksidan bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas tak stabil dengan mendonorkan satu elektron. Penghambatan

tersebut menyebabkan inhibisi pembentukan ROS dan deplesi spesies pengoksidasi senyawa *xenobiotic*. Penghambatan ROS terjadi melalui pengaktifan jalur sinyal antioksidan endogen seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (Cat), dan glutathion peroksidase (GPx) sehingga hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil ($-OH$) tidak dapat terbentuk (Husna *et al.*, 2022).

Perbedaan dosis pemberian air rebusan daun jambu biji (20 dan 25 lembar) menghasilkan efek yang sama terhadap jumlah neutrofil. Hasil ini dapat disebabkan karena pengamatan jumlah neutrofil dilakukan setelah melewati puncak periode inflamasi. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa puncak inflamasi terjadi setelah 24 jam induksi CCl_4 dan mereda setelah 7 hari (Endig *et al.*, 2019). Penyebab lain dari jumlah neutrofil yang serupa pada KP1 dan KP2 adalah karena neutrofil memiliki umur yang pendek dengan waktu paruh sekitar 6-7 jam serta memiliki rentang hidup selama 1-4 hari (Mescher, 2018). Penelitian ini mengamati jumlah neutrofil pada hari ke-9 sehingga dimungkinkan neutrofil telah rusak atau mati.

Hasil penelitian ini dapat memberikan makna bahwa air rebusan daun jambu biji memberikan efek kuratif atau menghasilkan perbaikan cedera hati, namun masih memiliki keterbatasan yaitu pengamatan jumlah neutrofil dilakukan diluar rentang hidup atau umur neutrofil dan tidak melakukan pengamatan beberapa marker kerusakan hati seperti ALT, AST, ALP, serta kadar total bilirubin yang dalam kondisi kerusakan hati kadarnya dapat meningkat melebihi normal.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Pemberian air rebusan daun jambu biji berpengaruh terhadap jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4 .
2. Terdapat perbedaan jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok kontrol dan perlakuan.
3. Tidak terdapat perbedaan jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok perlakuan.

5.2. Saran

1. Mengamati jumlah neutrofil pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar di 24 jam atau pada 1-4 hari pasca induksi CCl_4 .
2. Mengamati pengaruh air rebusan daun jambu biji terhadap kadar ALT, AST, ALP, serta kadar total bilirubin pada tikus jantan galur wistar yang induksi CCl_4 .

DAFTAR PUSTAKA

- Adilla, N. and Lina, J. (2023) 'Uji Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Merah Dan Daun Ketapang Terhadap Kadar Profil Lipid'. Available at: <https://comserva.publikasiindonesia.id/index.php/comserva/article/view/1007/1252> (Accessed: 31 January 2024).
- Amin, A.S.M. Al and Menezes, R.G. (2023) 'Carbon Tetrachloride Toxicity', *StatPearls Publishing*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562180/> (Accessed: 6 April 2024).
- Anand, V. Manikandan. Kumar, V. Kumar, S. Pushpa. Hedina, A. (2016) 'Phytopharmacological overview of Psidium guajava Linn.', *Pharmacognosy Journal*. EManuscript Services, pp. 314–320. Available at: <https://doi.org/10.5530/pj.2016.4.3>.
- Ardhie, A.M. (2011) 'Radikal Bebas Dan Peran Antioksidan Dalam Mencegah Penuaan', *MEDICINUS*, 24.
- Avci, E. Akkaya, U. Yilmaz, E. Balci, P. (2015) 'The Analysis of Inflammatory Cell Migration Using Primary Neutrophils', *Pediatric Rheumatology* [Preprint]. Available at: <https://sci-hub.se/10.1186/1546-0096-13-s1-p136> (Accessed: 16 May 2024).
- Blezeinsky, F., Gumay, A. and Hardian (2019) 'Efek Pemberian Ekstrak Daun Carica Pubescens terhadap Jumlah Neutrofil pada Tikus Sprague Dawley yang Diinduksi Azoxymethane', 8(3), pp. 955–963.
- Böttcher, K. and Pinzani, M. (2017) 'Pathophysiology of Liver Fibrosis and The Methodological Barriers to The Development Of Anti-Fibrogenic Agents', *Advanced Drug Delivery Reviews* 121, pp. 3–8.
- Dewi, N. Puspawati, N. Swantara, I. Asih, I. Rita, W. (2014) 'Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (Solanum betaceum) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak Pada Plasma Darah Tikus Wistar', *Cakra Kimia (Indonesia E-Journal Of Applied Chemistry)*, 2(1).
- Dewi, U. and Saraswati, T. (2009) 'Efek Rebusan Daun Tapak Dara pada Dosis dan Frekuensi yang Berbeda terhadap Kerusakan dan Akumulasi Glikogen pada Hepar Mencit (Mus musculus)', *BIOMA*, 11(1), pp. 1–5.
- Dong S, Chen QL, Song YN, Sun Y, Wei B, Li XY, Hu YY, Liu P, Su SB. 2016. Mechanisms of CCl₄-induced liver fibrosis with combined

- transcriptomic and proteomic analysis. *Journal of Toxicological Sciences*, 41(4): 561–572. <https://doi.org/10.2131/jts.41.561>.
- El Sayed HESA, Morsy LES, Abo Emara TM, Galhom RA. 2019. Effect of Carbon Tetrachloride (CCL4) on Liver in Adult Albino Rats: Histological study. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 76(6): 4254–4261. <https://doi.org/10.21608/ejhm.2019.43804>.
- Endig J, Unrau L, Sprezyna P, Rading S, Karsak M, Goltz D, Heukamp LC, Tiegs G, Diehl L. 2019. Acute liver injury after ccl4 administration is independent of smad7 expression in myeloid cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(22): 1–11. <https://doi.org/10.3390/ijms20225528>.
- Faradilla, M. and Rizal, K. (2023) ‘Phytochemical screening analysis of Guava leaf extract (*Psidium guajava* L.) against the content of Saponins, Tannins, and Flavonoids’, *Journal of Natural Sciences and Mathematics Research*, 9(2), pp. 117–126. Available at: <https://doi.org/10.21580/JNSMR.2023.9.2.17835>.
- Husna PAU, Kairupan CF, Lintong PM. 2022. Tinjauan Mengenai Manfaat Flavonoid pada Tumbuhan Obat Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *eBiomedik*, 10(1): 76–83.
- Krisnansari, D. Sulisty, H. Kusdaryantoi, W. (2014) ‘Potensi Hepatoprotektor Propolis terhadap Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Karbon Tetrakhlorida’.
- Li, X. Zhu, R. Li, B. Zhou, M. Sheng, Q. Yang, Y. *et al.* (2010) ‘Mechanism underlying carbon tetrachloride-inhibited protein synthesis in liver’, *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 16(31), p. 3950. Available at: <https://doi.org/10.3748/WJG.V16.I31.3950>.
- Lin, W. Wu, Y. Wang, J. Lin, H. Xu, X. He, G. *et al.* (2020) ‘Network pharmacology study of the hepatoprotective effects of quercetin-containing traditional Chinese medicine, *Anoectochilus roxburghii*, and validation of quercetin as an anti-liver injury agent in a mouse model of liver injury’, *Medical Science Monitor*, 26. Available at: <https://doi.org/10.12659/MSM.923533>.
- Mandal, S. Yadav, S. Yadav, S. Nema, R. (2009) ‘Antioxidants: A Review’, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1(1), pp. 102–104. Available at: www.jocpr.com (Accessed: 9 June 2024).
- Maulina, M. (2018) ‘Zat-Zat Yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar’. *Lhokseumawe: Unimal Press*.

- Mescher, A.L. (2018) 'Junqueira's Basic Histology : Text and Atlas'.
- Mormone, E., George, J. and Nieto, N. (2011) 'Molecular Pathogenesis Of Hepatic Fibrosis and Current Therapeutic Approaches', *Chem Biol Interact*, 193(3), pp. 225–231. Available at: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3171510/pdf/nihms313693.pdf> (Accessed: 5 November 2024).
- Newburger, P.E. and Dale, D.C. (2013) 'Evaluation and Management of Patients With Isolated Neutropenia', *Seminars in Hematology*, 50, pp. 198–206. Available at: <https://sci-hub.se/10.1053/j.seminhematol.2013.06.010> (Accessed: 3 November 2024).
- Noor, M.T. and Manoria, P. (2017) 'Immune Dysfunction in Cirrhosis', *J Clin Transl Hepatol*, 5(1), pp. 50–58. Available at: <https://doi.org/10.14218/JCTH.2016.00056>.
- Panjaitan, R. Handharyani, E. Chairul. Masriani. Zakiah, Z. Manalu, W. (2007) 'Pengaruh Pemberian Kabron Tetraklorida terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus', *Makara Kesehatan*, 11(1), pp. 11–16.
- Popovi, D. Koci, G. Kati, V. Zarubica, A. Jankovi, L. Ničkovi, V. *et al.* (2019) 'Anthocyanins Protect Hepatocytes against CCl 4-Induced Acute Liver Injury in Rats by Inhibiting Pro-inflammatory mediators, Polyamine Catabolism, Lipocalin-2, and Excessive Proliferation of Kupffer Cells', *Antioxidants*, 8, p. 451. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox8100451>.
- Prasetyo, D. and Surati (2023) 'Pengaruh Air Rebusan Daun Jambu Biji Putih (*Psidium guajava* var. *pyrifer* l.) Terhadap Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Alokstan'.
- Putri, W.C.W., Yuliawati and Rahman, H. (2021) 'Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Parasetamol', *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2). Available at: <http://journals.ums.ac.id/index.php/pharmacon>.
- Quintieri, L. Palatini, P. Moro, S. Floreani, M. (2011) 'Inhibition of Cytochrome P450 2C8-mediated Drug Metabolism by the Flavonoid Diosmetin'. Available at: <https://doi.org/10.2133/dmpk.DMPK-11-RG-048>.
- Rao, S. Kalva, S. Yerramilli, A. Mamidi, S. (2011) 'Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants', 1(4).
- Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. 2010. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(5): 393–396.

- Rochmasari, Y. (2011) 'Studi Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia dalam Fraksi Netral Daun Jambu Biji Australia (*Psidium guajava* L.);'. *Universitas Indonesia*. Available at: <https://lib.ui.ac.id/file?file=digital/old26/20289119-S877-Studi%20isolasi.pdf> (Accessed: 15 May 2024).
- Rosales, C. (2020) 'Neutrophils at the crossroads of innate an adaptive immunity', *Journal Of Leukocyte Biology*. Available at: <https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1002/JLB.4MIR0220-574RR> (Accessed: 16 May 2024).
- Saijou E, Enomoto Y, Matsuda M, Yuet-Yin Kok C, Akira S, Tanaka M, Miyajima A. 2018. Neutrophils Alleviate Fibrosis in the CCl₄-Induced Mouse Chronic Liver Injury Model. *Hepatology Communications*, 2(6): 703–707.
- Santoso, P. and Yuda, P.E.S.K. (2016) 'Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Buah Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit yang Diinduksi Karbon Tetraklorida (CCl₄)', *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 2(2), pp. 2356–4814.
- Sari, F. and Kurniaty, I. (2021) 'Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Sebagai Zat Tambah Pembuatan Sabun Cair', *Jurnal Konversi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 10.
- Sayed, H. Morsy, L. Emara, T. Galhom, R. (2019) 'Effect of Carbon Tetrachloride (CCL₄) on Liver in Adult Albino Rats: Histological study', *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 76(6), pp. 4254–4261.
- Soesilawati, P. (2019) *Histologi Kedokteran Dasar*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Suryadinata, R. Nur, A. Christina, G. Utami, M. Wirjatmadi, B. (2022) 'Efikasi Antioksidan Akar Terung Pipit (*Solanum torvum*) terhadap Kerusakan Hati dengan Induksi CCl₄ pada *Rattus norvegicus*', *Amerta Nutrition*, 6(1SP), pp. 59–63. Available at: <https://doi.org/10.20473/amnt.v6i1sp.2022.59-63>.
- Wigati, D. and Pratoko, D.K. (2016) 'Total Flavonoid dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas dari Ekstrak Etanolik Daun dan Buah Mengkudu', *Journal of Pharmacy*, 5(1), pp. 7–11.
- Wlaschek, M. and Kochanek, K.S. (2005) 'Oxidative Stress In Chronic Venous Leg Ulcers'. Available at: <https://sci-hub.se/10.1111/j.1067-1927.2005.00065.x> (Accessed: 3 June 2024).