PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava Linn.*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS

Studi Eksperimental pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Wistar* yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl_4

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Disusun Oleh:

Fazad A'la Najikh

30102100093

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2025

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava Linn.*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS

Studi Eksperimental pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Wistar* yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl_4

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Fazad A'la Najikh
30102100093

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 30 Januari 2025 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes

Anggota Tim Penguji

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

Pembimbing II

Dina Fatmawati, S.Si, M.Sc

dr. Arini Dewi Antari, M.Biomed

Semarang, 30 Januari 2025
Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNISSULA

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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fazad A'la Najikh

NIM : 30102100093

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

"PENGARUH PEMBERIAN AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI (*Psidium guajava Linn.*) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Wistar* yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl_4)"

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, 30 Januari 2025

Yang menyatakan,

Fazad A'la Najikh

PRAKATA

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadirat 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 SEL FIBROBLAS (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur *Wistar* yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl_4)"**

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. Serta pihak yang tidak dapat saya sebutkan yang telah membantu dalam penyelesaian 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, 30 Januari 2025
Penulis,

Fazad A'la Najikh

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
SURAT PERNYATAAN iii
PRAKATA iv
DAFTAR ISI vi
DAFTAR SINGKATAN ix
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR LAMPIRAN xii
INTISARI xiii
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 4
1.3. Tujuan Penelitian 4
1.3.1. Tujuan Umum 4
1.3.2. Tujuan Khusus 4
1.4. Manfaat Penelitian 4
1.4.1. Manfaat Teoritis 4
1.4.2. Manfaat Praktis 5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6
2.1. Hepar 6
2.1.1. Anatomi Hepar 6
2.1.2. Histologi Hepar 6
2.1.3. Fisiologi Hepar 7
2.1.4. Patogenesis Fibrosis Hepar 9
2.2. Fibroblas 10
2.2.1. Definisi 10
2.2.2. Struktur Fibroblas 11
2.2.3. Fungsi Fibroblas 11

2.2.4. Peran Fibroblas pada Fibrosis Hepar 13
2.3. Daun Jambu Biji 14
2.3.1. Taksonomi Daun Jambu Biji 14
2.3.2. Kandungan Daun Jambu Biji 15
2.4. Pengaruh Air Rebusan Daun Jambu Biji Terhadap Fibroblas pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi CCl_4 16
2.5. Kerangka Teori 20
2.6. Kerangka Konsep 21
2.7. Hipotesis 21
BAB III METODE PENELITIAN 22
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian 22
3.2. Variabel dan Definisi Operasional 23
3.2.1. Variabel Penelitian 23
3.2.2. Definisi operasional 23
3.3. Subjek Uji 24
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian 24
3.4.1. Instrumen 24
3.4.2. Bahan 25
3.5. Cara Penelitian 25
3.5.1. Pembuatan Air Rebusan Daun Jambu Biji 25
3.5.2. Pembuatan Model Tikus Fibrosis Hepar 26
3.5.3. Induksi Karbon Tetraklorida (CCl_4) 26
3.5.4. Pembuatan dan Pengecatan Preparat 26
3.5.5. Pembuatan Blok Paraffin 28
3.5.6. Kelompok Perlakuan 30
3.6. Alur Penelitian 31
3.7. Tempat dan Waktu Penelitian 32
3.8. Analisis Data 32
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 33
4.1. Hasil Penelitian 33
4.2. Pembahasan 36

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 40
5.1. Kesimpulan 40
5.2. Saran 40
DAFTAR PUSTAKA 41
LAMPIRAN 46

DAFTAR SINGKATAN

α-SMA	: *α-smooth muscle action*
ALT	: *Alanine transaminase*
AST	: *aspartate aminotransferase*
BMP-2	: *Bone Morphogenetic Protein 2*
BMP-7	: B*one morphogenetic protein 7*
CCl_4	: Karbon Tetraklorida
CCl3	: Trikolorometil
CCl3OO	: Trikolometilperoksi
DNA	: Asam Deoksiribonukleat
ECM	: Matriks Ekstraseluler
ET-1	: *Endotheline*-1
FGFR1	: Fibroblast Growth Factor Receptor 1
GLUT4	: Transporter Glukosa 4
HSC	: *Hepatic Stellate Cell*
ID1	: Inhibitor *Of DNA Binding 1*
IGF-1	: *Insulin-Like Growth Factor*-1
IL-6	: Interleukin 6
LSEC	: *Liver Sinusoidal Endothelial Cell*
NF-kB	: *Nuclear Factor Kappa B*
NRF2	: *Nuclear Factor Erythroid 2 Related Factor 2*
PAI	: *Plasminogen Activator Inhibotor*
PDGF	: *Palatelet Derived Growth Factor*
ROS	: *Reactive Oxygen Species*
TGF-β	: *Transforming Growth Factor-B*
TIMP-1	: *Tissue Inhibitor Of Metalloproteinase-1*
WHO	: *World Health Organization*

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Rerata Jumlah Sel Fibroblas Post Perlakuan Kelompok 34

Tabel 4.2. Hasil Analisis Uji Normalitas, Homogenitas, *Kruskal Wallis.*..... 34

Tabel 4.3. Hasil Uji *Post Hoc Mann-Whitney* Perbandingan Rerata Jumlah Sel Fibroblas Antar Dua Kelompok..... 35

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
UNISSULA
جامعة سلطان أجونج الإسلامية

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. (A) Anatomi Hepar (B) Histologi Hepar. 7
Gambar 2.2. Sel Fibroblas Manusia, panah hitam 11
Gambar 2.3. Fibrosis Hepar. 16
Gambar 2.4. Fibrosis Hepar dan jaringan ikat..... 18
Gambar 2.5. Kerangka Teori 20
Gambar 2.6. Kerangka Konsep 21
Gambar 3.1. Desain Penelitian 22
Gambar 3.2. Alur Penelitian..... 31
Gambar 4.1. Hasil Pemeriksaan Histopatologi. 33

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
UNISSULA
جامعة سلطان أجونج الإسلامية

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Pengamatan Jumlah Fibroblas pada 5 Lapang Pandang 46

Lampiran 2. Uji Deskripsi Jumlah Fibroblas 48

Lampiran 3. Uji Normalitas Sebaran Data dan Homogenitas Jumlah Fibroblas 49

Lampiran 4. Uji Perbedaan Jumlah Fibroblas Ketiga Kelompok menggunakan *Kruskal Wallis Test* 50

Lampiran 5. Uji Perbedaan Jumlah Fibroblas antara Dua Kelompok menggunakan *Post Hoc Mann Whitney Test* 51

Lampiran 6. *Ethical Clearance* 53

Lampiran 7. Surat Permohonan Ijin Penelitian 54

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian 55

Lampiran 9. Surat Pengantar Ujian Hasil Penelitian Skripsi 56

INTISARI

Paparan radikal bebas, seperti karbon tetraklorida (CCl_4), dapat merusak sel hepar dengan mengaktivasi hepatic stellate cell (HSC). Aktivasi ini memicu sekresi sitokin proinflamasi, yang meningkatkan aktivitas sel fibroblas dan memicu fibrogenesis. Daun jambu biji dikenal mengandung antioksidan dan anti-inflamasi bersifat hepatoprotektor. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah sel fibroblas pada gambaran histopatologi hepar tikus wistar model fibrosis.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design* ini menggunakan 27 ekor tikus jantan wistar yang diinduksi CCl_4 0,1 ml/100 grBB di hari pertama. Tikus dibagi tiga kelompok (K-: hanya diinduksi CCl_4, P1 dan P2 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 sel fibroblas dihitung dari preparat jaringan hepar yang dibuat dengan pewarnaan hematoksilin eosin. Perbandingan jumlah sel fibroblas dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Post Hoc Mann-Whitney*.

Hasil Penelitian ini didapatkan rerata jumlah sel fibroblas pada kelompok K- berjumlah 13,91 ± 0,0067 sel, sedangkan pada P1 dan P2 tidak ditemukan (0 sel). Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan $p<0,001$; uji lanjutan dengan *Post Hoc Mann-Whitney* didapatkan perbedaan jumlah sel fibroblas antara K- dengan P1 dan P2 ($p<0,001$) tetapi tidak ada perbedaan antara P1 dengan P2 ($p=1,000$).

Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian air rebusan daun jambu biji berpengaruh terhadap jumlah sel fibroblas pada gambaran histopatologi hepar tikus wispar model fibrosis yang diinduksi CCl_4.

Kata kunci: daun jambu biji, jumlah sel fibroblas, fibrosis, CCl_4.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit fibrosis hati merupakan proses pembentukan jaringan parut yang disebabkan oleh perubahan komposisi jaringan yang diawali dengan proses peradangan (Koyama & Brenner, 2018). Paparan radikal bebas yang terjadi terus menerus juga dapat menyebabkan kerusakan pada sel hepar seperti contohnya paparan karbon tetraklorida (CCl_4) yang akan menginduksi kerusakan sel hepatosit melalui aktivasi *hepatic stellate cell* (HSC) untuk mensekresi sitokin proinflamsi seperti *Transforming growth factor*- β1 (TGF-β1) sehingga peningkatkan aktivasi sel fibroblas untuk proses fibrogenesis sehingga berperan dalam patofisiologi fibrosis hepar (Baglieri *et al.*, 2019). Penelitian mengenai penemuan antioksidan alami yang kuat dan berkhasiat sebagai hepatoproktektor dengan efek samping minimal (Limsitthichaikoon *et al.*, 2018). Daun jambu biji (*Psidium guajava Linn)* merupakan salah satu tanaman yang memiliki senyawa aktif secara farmakologis terutama kandungan antioksidan (Mamun *et al.*, 2019). Daun jambu biji memiliki efek hepatoprotektor yang dimediasi oleh antioksidan dan anti-inflamasi melalui fraktor transkripsi *nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (*NRF2) dan *nuclear factor kappa B* (NF-kB). Kandungan dalam daun jambu biji didapatkan terdapat lebih dari 20 senyawa seperti alkaloid, anthocyanin, karotenoid minyak esensial, asam lemak, lesitin, fenol, saponin, tanin, triterpene dan vitamin C (Valenzuela *et al.*, 2017). Air

rebusan daun jambu biji dengan konsentrasi 100 µg/mL menunjukkan kapasitas antioksidan yang baik sebesar 56,38% (Luo *et al.*, 2018), namun penelitian mengenai air rebusan daun jambu biji sebagai antiinflamasi dalam memperbaiki kerusakan hepar terhadap jumlah sel fibroblas belum banyak dilakukan.

Penyakit fibrosis hati merupakan adalah penyakit hepar kronis stadium akhir yang menjadi penyebab kematian yang tinggi prevalensi yang menyumbang sekitar 2 juta kematian tiap tahunya dan menduduki urutan ke-11 dan sebagai penyakit penyebab kematian tertinggi di dunia (Asrani *et al.*, 2019). Data oleh *World Health Organization* (WHO) (2018) kematian terkait penyakit hati mencapai 8763 jiwa atau 3,75% dari total kematian di Rumania. Data yang dipaparkan oleh Riskesdas (2018) prevalensi penyakit fibrosis hepatis akibat hepatitis B di Indonesia sebesar 7.2% dari total penduduk. Prevalensi kasus *Nonalcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD) sebagai salah satu faktor risiko fibrosis hati di Indonesia sebesar 45,2% dan mengalami peningkatan kasus tiap tahun akibat faktor risiko obesitas, diabetes melitus dan hiperkolesterolemia yang semakin meningkat (Liou & Kumar, 2021).

Radikal bebas dan zat toksik yang berlebihan berperan dalam kerusakan sel hati. Penelitian terhadap radikal bebas sering menggunakan CCl_4 sebagai induksi kerusakan hati. CCl_4 termasuk senyawa halogen hidrokarbon alifatik yang sering digunakan untuk pelarut, peptisida, penghilang noda dan sabun (Ramadani *et al.*, 2021). Paparan CCl_4 akan

menyebabkan kerusakan sel hepar. Penelitian oleh Dong *et al.*, (2018) induksi CCl_4 mengakibatkan peradangan pada hati dan fibrosis yang ditandai peningkatan kadar *alanine aminotransferase* (ALT), *aspartate aminotransferase* (AST), *tumor necrosis factor alpha* (TNF-α), *interleukin-6* (IL-6) dan *alpha smooth muscle actin* (αSMA) yang akan menginduksi respon inflamasi dan fibrogenik, kemudian akan mengaktivasi fibroblas melalui jalur inflamasi. Penelitian sebelumnya oleh Putra, (2020) induksi CCl_4 dengan pemberian 0.1ml/100grBB menunjukan kerusakan sel hepar seperti sel *baloning*, steatosis dan akumulasi sel radang terutama sel fibroblas. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada daun jambu biji yaitu flavonoid sebagai antioksidan memiliki aktivitas farmakologis anti-inflamasi, anti-kanker, anti-fibrogenik dan hepatoprotektif (Jiang *et al.*, 2020). Penelitian oleh Farag *et al.*, (2020) skrining fitokimia pada daun jambu biji didapatkan adanya senyawa polifenol bioaktif seperti quercetin dan flavonoid yang merupakan antioksidan dan imunostimulan yang kuat yang bersifat hepatoprotektor. Penelitian sebelumnya oleh Ratu & Puspita, (2023) Rebusan air daun jambu biji dengan dosis 20 dan 25 lembar merupakan dosis efektif untuk memperbaiki kerusakan sel hepatosit.

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji *(Psidium Guajava linn.)* terhadap jumlah sel fibroblas pada tikus jantan (*rattus norvegiucus*) galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) terhadap jumlah sel fibroblas secara histopatologi pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) terhadap jumlah sel fibroblas secara histopatologi pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar* yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4.

1.3.2. Tujuan Khusus

Menganalisis perbedaan rerata jumlah sel fibroblas antar kelompok penelitian.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Memberikan sumbangan informasi bagi pengembangan penelitian mengenai manfaat air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) terhadap efek hepatoprotektor.

1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) sebagai hepatoprotektor.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hepar

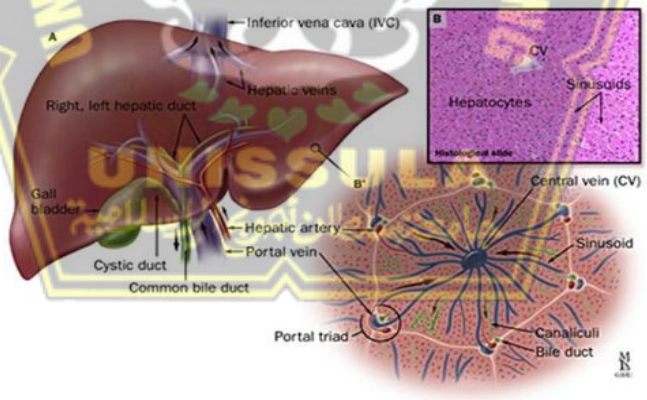
2.1.1. Anatomi Hepar

Hati merupakan organ dalam terbesar di tubuh manusia yang berperan sebagai pusat regulasi metabolik. Organ ini dibungkus oleh kapsul fibrosa yang keras dan dilapisi oleh lapisan dalam peritoneum. Hati terbagi menjadi empat lobus, yaitu lobus kanan, lobus kiri, lobus kaudatus, dan lobus quadratus. Pada hati, terdapat empat ligamen, yaitu ligamentum falsiform, ligamentum teres, ligamentum triangular, dan ligamentum koroner. Darah yang berasal dari sirkulasi akan memasuki organ hati melalui arteri hepatika propria dan vena portal hati. Arteri hepatika propria itu sendiri membawa darah dari jantung, sementara vena portal hati membawa darah dari kapiler esofagus, lambung, usus halus, dan usus besar. Bersama dengan duktus empedu, ketiga struktur tersebut akan membentuk triad portal hati yang merupakan pintu masuk dan keluar dari hati (Nadya, 2021).

2.1.2. Histologi Hepar

Setiap lobus hati dibagi oleh jaringan ikat menjadi kurang lebih 100.000 lobulus yang merupakan unit fungsional dasar hati. Masing-masing lobulus dipisahkan dengan lobulus-lobulus di sekitarnya oleh jaringan ikat yang disebut septum interlobular.

Setiap lobulus memiliki diameter kurang lebih 1 mm, berbentuk heksagonal, dan terdiri dari banyak hepatosit yang membentuk lempeng ireguler menyerupai jari-jari roda. Di antara lempeng-lempeng yang berdekatan, terdapat sinusoid hati yang memiliki celah yang lebar. Di keenam sudut lobulus, terdapat triad portal hati yang akan membawa darah dari arteri hepatika propria dan vena portal hati ke sinusoid hati, dimana hepatosit akan menyerap zat yang terlarut dalam plasma dan mensekresikan material seperti protein plasma ke dalam darah tersebut. Darah dari sinusoid akan dikosongkan kevena sentralis hati, bergabung dengan vena sentralis lainnya menjadi vena hepatika, untuk kemudian dikosongkan ke dalam vena cava inferior (Nadya, 2021).



Gambar 2.1. (A) Anatomi Hepar (B) Histologi Hepar.
(Afrihadi, 2016)

2.1.3. Fisiologi Hepar

Selain meregulasi komponen dalam darah, organ hati juga dapat mensekresikan cairan empedu yang berfungsi dalam metabolisme lipid. Dari hepatosit, cairan tersebut akan dikeluarkan

ke kanalikuli empedu yang kemudian berlanjut ke duktulus empedu, duktus empedu, duktus hepatikus kanan dan kiri, serta duktus hepatikus komunis. Empedu yang berada di dalam duktus hepatikus komunis dapat dialirkan ke duktus biliaris komunis untuk kemudian dikeluarkan dalam ampul usus duodenum, atau dialirkan ke duktus sistika untuk kemudian disimpan dalam kantung empedu. (Nadya, 2021)

Organ hati memiliki tiga fungsi utama, yaitu regulasi metabolik, regulasi hematologis, dan produksi empedu. Sebagai pusat regulasi metabolik, organ hati berperan dalam mengatur komposisi darah yang bersirkulasi. Seluruh darah yang masuk dari saluran cerna akan dialirkan ke sistem portal hepatika dan masuk ke dalam hati untuk kemudian diambil nutrien atau toksinnya sebelum merekamemasuki sirkulasi sistemik. Organ hati juga berperan dalam metabolisme karbohidrat, lipid, dan asam amino, pembuangan produk sisa termasuk toksin dalam darah, penyimpanan vitamin dan mineral, serta inaktivasi obat-obatan. Sebagai pusat regulasi hematologis, organ hati juga berfungsi untuk mengatur fagositosis dan presentasi antigen, mensintesis protein plasma, menyimpan atau menghilangkan toksin, serta membuang sisa hormon dan antibodi (Nadya, 2021).

2.1.4. Patogenesis Fibrosis Hepar

Fibrosis pada hati merupakan dampak patologis akibat dari deposisi matriks ekstraseluler, meliputi kolagen tipe 1 dan kolagen tipe 2. Hal tersebut diakibatkan oleh inflamasi dengan berbagai penyebabnya. Pada saat terjadi inflamasi sel hepatosit akan merekrut sel- sel pro-inflamasi dan anti-inflamasi, seperti monosit dan makrofag. Keduanya akan beraktifikasi memproduksi sitokin dan kemokin yang akan meningkatkan stimulus pada HSC dengan aktivasi sel-sel pro-inflamasi. (Ari, 2023)

Mekanisme hubungan yang memperbesar pola matriks ekstraseluler yang mensintesis myofibroblas antara lain:

1. Influks dari sel-sel turunan sumsum tulang seperti fibrosit ke hati, ke monosit sirkulasi
2. Terhadap diferensiasi yang digerakkan oleh TGF-β menjadi fibroblas
3. Transisi epitelial-mesenkimal hepatosit dan sel epitel duktus bilier menjadi fibroblas. (Ari, 2023)

Adapun beberapa mediator yang berperan dalam tahap ini antara lain: TGF- β, *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), *Insulin-like Growth Factor*-1 (IGF-1), *Endotheline*-1 (ET-1), dan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selanjutnya pada fase fibrogenesis, HSC terjadi akibat interaksi dengan hepatosit yang rusak, sel Kupffer yang teraktivasi, platelet yang terdisintegrasi, dan beberapa subfraksi

leukosit. Beberapa sitokin yang terlibat dalam fase ini antara lain TGF-β, PDGF, endothelin-1, VEGF, dan lainnya. Mediator antifibrotik seperti *Bone Morphogenetic Protein* (BMP)-7 juga ada dalam fase ini dan berperan dalam inhibisi EMT turunan fibroblas (Ari, 2023).

2.2. Fibroblas

2.2.1. Definisi

Sel fibroblas adalah sel yang berasal dari sel mesenkim dan memiliki beberapa tipe morfologi berdasarkan lokasinya dalam tubuh. Sel ini dapat ditemukan pada semua jaringan ikat dan merupakan sel yang paling banyak jumlahnya jika dibandingkan dengan sel jaringan ikat lainnya, seperti sel tulang, sel otot, dan sel adiposa. Peran dari sel fibroblas antara lain adalah menghasilkan dan mendegradasi matriks ekstraseluler yang menyediakan integritas struktural bagi jaringan dan membentuk *microenvironment* selular bagi sel lainnya seperti sel pembuluh darah, sel inflamasi, sel epitel, dan sel induk jaringan tertentu. *Microenvironment* selular ini mengatur fungsi sel-sel tersebut melalui interaksi reseptor-ligan, mengeluarkan dan menerima faktor-faktor pertumbuhan, dan mentransmisikan sinyal mekanosensori. Selain itu, fibroblas juga berinteraksi dengan sel-sel lainnya melalui faktor pertumbuhan yang dihasilkan oleh dirinya sendiri maupun oleh matriks ekstraseluler.

Sel ini juga berfungsi memproduksi kolagen dan serat elastin (Carissa, 2020).

2.2.2. Struktur Fibroblas

Morfologi sel fibroblas umumnya berbentuk gelondong atau sering disebut *spindle-like* dengan inti sel berada di tengah. Beberapa penelitian menyebutkan, fibroblas terbukti berperan aktif dalam regenerasi epitel pada trakea, regenerasi jaringan periodontal, dan penyembuhan luka pada kulit. (Isma, 2019)

Gambar 2.2. Sel Fibroblas Manusia, panah hitam : fibroblas; panah kuning : kolagen dengan mikroskop perbesaran 400x
(Isma, 2019)

2.2.3. Fungsi Fibroblas

Fibroblas terlibat dalam pertumbuhan normal jaringan ikat, proses penyembuhan luka dan aktivitas fisiologis dari tiap jaringan dan organ dalam tubuh. Fungsi utama fibroblas adalah menjaga integritas jaringan pendukung dengan caramengatur perubahan umur matriks ekstraseluler secara berkesinambungan. Luka yang terjadi

pada suatu jaringan akan menyebabkan fibroblas berproliferasi, bermigrasi menuju sumber luka dan menghasilkan sejumlah matriks kolagen yang dapat membantu mengisolasi dan memperbaiki jaringan yang rusak. Kemampuan dari fibroblas tersebut merupakan alasan mudah melakukan kultur fibroblas sehingga banyak digunakan sebagai subjek penelitian. (Isma, 2019)

Kemampuan fibroblas yang bersifat tidak aktif (*quiescent*) untuk menjadi aktif dan dapat mensintesis (yang dikenal dengan myofibroblas) pertama kali diamati pada proses penyembuhan luka, kemudian pada kondisi peradangan akut dan kronis serta pada inflamasi dan fibrosis jaringan. Fibroblas juga dikenal sebagai sel mesenkim yang mengalami dormansi dan dapat diaktifkan oleh rangsangan sehingga menjadi *mesenchymal stem cell* (MSC). Rangsangan tersebutdiantaranya, faktor pertumbuhan berupa TGF-β, PDGF dan IL-6. Fibroblas yang dikultur dan berasal dari daerah penyembuhan luka dan jaringan yang tidak normal dapat mensekresi matriks ekstraseluler (ECM) yang lebih tinggi dibandingkan pada jaringan normal, dapat dilihat dari kultur fibroblas yang berasal dari keloid. Peningkatan produksi ECM tersebut yang menjadikan fibroblas menjadi aktif. Fibroblas yang aktif selain dapat menghasilkan dan mensingkronisasi produksi ECM juga dapat menghasilkan sitokin dan kemokin, merekrut sel imun dan membentuk struktur jaringan sehingga normal kembali (Isma, 2019).

2.2.4. Peran Fibroblas pada Fibrosis Hepar

Inflamasi pada hati akibat berbagai macam penyebab, baik kolestasis, infeksi virus, alkohol, reaksi autoimun, toksin, atau metabolik, akan menghasilkan respons imun yang berkepanjangan sehingga terjadi inflamasi dan *remodelling* jaringan secara simultan, mengakibatkan fibrosis yang kemudian menjadi sirosis. Inflamasi akan mengaktivasi HSC, yaitu sel perisinusoidal yang berada di kavum Disse yang mengandung vitamin A. Aktivasi HSC akan menyebabkan hilangnya penyimpanan retinoid dan transformasi menjadi sel berbentuk seperti myofibroblas yang mengekspresikan α-SMA dan memproduksi kolagen yang berperan banyak dalam fibrosis. Selain itu, terjadi peningkatan TIMP-1 yang menghambat resolusi matriks ekstraseluler sehingga meningkatkan deposisi kolagen. (Hardian, 2023)

Sel mesenkimal memicu kaskade inflamasi dengan melakukan peningkatan leukosit yang merekrut kemokin dan molekul adhesi, melakukan fagositosis, presentasi antigen dan aktivasi sel T (Cordero, 2018). *Liver sinusoidal endothelial cell* (LSEC) juga memegang peranan dalam inflamasi karena berperan sebagai konduit agen proinflamasi, yang memegang peranan baik dalam regenerasi maupun fibrosis hati. Pada kerusakan akut, LSEC meningkatkan reseptor kemokin CXCR7 yang bekerja kooperatif dengan sinyal CXCR4 melalui DNA- *binding protein inhibitor ID1* untuk

memproduksi sinyal pro-regeneratif seperti *hepatocyte growth factor* (HGF) yang akan mendorong ekspansi hepatosit. Pada kerusakan kronik, sinyal konstitutif dari fibroblas growth factor receptor 1 (FGFR1) akan mengurangi rasio ekspresi CXCR7 terhadap CXCR4, mengambil alih aktivasi *inhibitor of DNA binding 1* (*ID1*), dan memicu proliferasi HSC dengan memicu sekresi sitokin seperti TGF-β, *bone morphogenetic protein 2* (*BMP2*), *palatelet derived growth factor* (PDGF) (Hardian, 2023).

2.3. Daun Jambu Biji

2.3.1. Taksonomi Daun Jambu Biji

Psidium guajava Linn adalah pohon yang berasal dari Amerika Selatan, dikenal dengan jambu biji. Dan merupakan family Myrtaceae. *Psidium guajava Linn* telah digunakan sejak dahulu sebagai tanaman obat di berbagai penjuru dunia. Seluruh bagian dari pohon ini, termasuk buah, daun, akar, telah digunakan untuk menyembuhkan nyeri perut dan diare di berbagai negara. Daun, biji, dan buah digunakan untuk menangani penyakit pernapasan dan gastrointestinal, dan sebagai anti-inflamasi, antispasme otot, obat sedatif batu, dan penanganan hipertensi, obesitas, dan kontrol diabetes melitus. Biji digunakan sebagai antimikrobial, gastrointestinal, anti-alergi dan antikarsinogenik (Seruni, 2018).

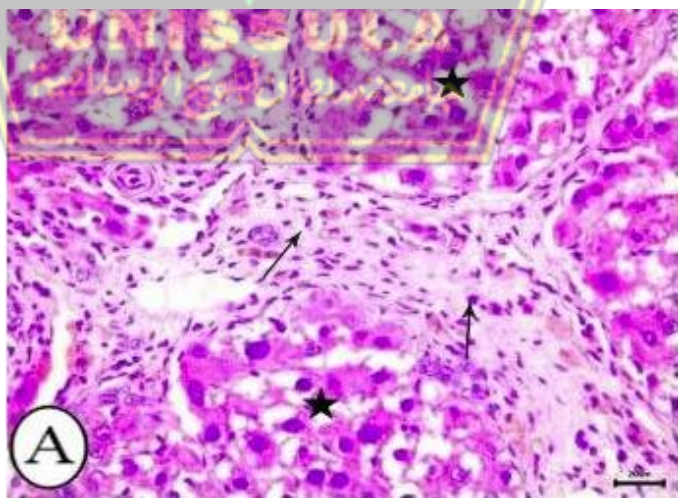
2.3.2. Kandungan Daun Jambu Biji

Jambu biji terdiri dari vitamin, tannin, komponen fenolik, flavonoid, minyak esensial, asam triterpenoid, dan alkohol sesquiterpene. Komponen-komponen ini berhubungan dengan beberapa khasiat buah jambu terhadap kesehatan. Air rebusan daun jambu dapat berperan sebagai analgesik, anti-inflamasi, antimikroba, dan aktivitas antioksidan. Hal ini disebabkan karena terdapat komponen fenol pada jambu. (Seruni, 2018)

Air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn)* dapat menurunkan ekspresi pembentukan nitrit oksida dan siklooksigenase-2, yang merupakan 2 mediator inflamasi, melalui *down- regulation* dari NF-kB. Fraksi flavonoid pada air rebusan daun jambu biji juga dapat menginhibisi lipopolisakarida yang menginduksi prostaglandin E2 dan produksi nitrit oksida. Flavonoid merupakan substansi fenol terhidrolasi yang disintesis melalui jalur fenilpropanoid oleh tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi bakteri. Metanol dan etanol pada air rebusan daun jambu biji dapat menginhibisi lisis dari membrane eritrosit. Selain tu, ditemukan bahwa air rebusan daun jambu ini dapat menjadi agen stimulasi imun karena daun tersebut dapat memodulasi respon proliferasi limfosit. (Seruni, 2018).

2.4. Pengaruh Air Rebusan Daun Jambu Biji Terhadap Jumlah Sel Fibroblas pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl_4

CCl_4 telah digunakan secara luas untuk menginduksi cedera hati dan fibrosis pada tikus selama beberapa dekade (Scholten *et al.*, 2015). Dosis tinggi (≥1 ml/kg) CCl_4 dapat menyebabkan cedera hati akut yang berulang. Toksisitas CCl_4 bergantung pada metabolisme yang dikatalisis P450 menjadi metabolit reaktif radikal triklorometil (CCl3), dan CCl_4 diubah menjadi CCl3 untuk mengikat protein, asam deoksiribonukleat (DNA), dan lipid, yang dapat menyebabkan kerusakan mitokondria dan stres oksidatif. CCl3 juga dapat bereaksi dengan O2 untuk membentuk radikal triklorometilperoksi (CCl3OO). Selain itu, hewan yang diberi perlakuan CCl_4 menunjukkan apoptosis yang lebih tinggi dan menunjukkan fibrosis yang jelas pada hati hewan (Kurdi *et al.*, 2018).



Gambar 2.3. Fibrosis Hepar.
(Panah) menunjukkan pita tebal serat kolagen yang mengganggu parenkim hati dan (bintang) mengelilingi kelompok hepatosit yang mengalami degenerasi (H&E, bar= 20um)

Patofisiologi fibrosis hepar akan terjadi aktivitasi HSC. Pada awal proses fibrosis hepar terjadi inflamasi sehingga sel-sel hepar akan mengaktivasi HSC untuk mensekresi sitokin proinflamsi seperti TGF-β1, PDGF dan PAI yang menginduksi fibrogenesis akibat proliferasi myofibroblas yang merupakan sumber utama matriks ekstraseluler (Dewidar *et al.*, 2019). Adanya mekanisme inhibisi sel HSC oleh ekstra daun jambu biji melalui menghambatan pada ekspresi α-SMA dan penghambatan sinyal TGF-β1 sebagai jalur aktivasi utama pada HSC (Momchilova *et al.*, 2021). Penekanan HSC, sitokin pro-inflamasi seperti TNF-α, IL-1β, dan IL-6, dan stress oksidatif melalui komponen bioaktif pada daun jambu biji akan menghambat proses poliferasi sel fibroblas, mengurangi produksi kolagen dan mencegah kerusakan sel hepatosit dan aktivasi HSC sehingga menurunkan proses fibrosis hepar (Baglieri *et al.*, 2019).

Dalam proses penyembuhan luka, makrofag memainkan peran penting dan memiliki dua subtipe yang berbeda, yaitu makrofag M1 dan M2, yang masing-masing memiliki efek yang berbeda terhadap sel fibroblas. Makrofag M1 berfungsi sebagai bagian dari respons inflamasi yang lebih awal setelah cedera. Aktivasi ini melalui reseptor TLR4 pada permukaan makrofag memulai transduksi sinyal yang mengarah pada pelepasan mediator inflamasi seperti TNF-α, IL-1, dan IL-6. Mediator-mediator ini memicu peradangan dengan menarik sel-sel inflamasi lain seperti neutrofil dan limfosit ke situs cedera. Peran makrofag M1 dalam penyembuhan luka berfokus pada pertahanan awal terhadap infeksi dan pembersihan jaringan

yang rusak atau mati. Meskipun ini penting untuk menghilangkan patogen dan debris, respons inflamasi yang berlarut-larut dapat memperburuk kerusakan jaringan. M1 dapat menghambat pembentukan kolagen secara langsung dan menunda migrasi dan proliferasi fibroblas dalam konteks fibroblas. Infus sel M1 eksogen menyebabkan penyembuhan luka yang tertunda, ditandai dengan sedikit produksi kolagen dan penyusunan serat kolagen yang tidak teratur dan halus pada eksperimen tikus. Ini menunjukkan bahwa inflamasi yang berlebihan dapat memperpanjang durasi fase inflamasi dan memperlambat regenerasi jaringan (Gao *et al.*, 2023)

Gambar 2.4. *Bridging fibrosis* (panah hitam) menghubungkan traktus portal ke traktus portal lainnya. (Naoumov et al., 2024)

Bridging fibrosis adalah fibrosis yang menghubungkan traktus portal dengan traktus portal lain (Mak et al., 2023). Fibrosis perivenular atau perisinusoidal berkembang melalui aktivasi HSC yang meletakkan matriks di kavum Disse. Saat fibrosis halus ini menyebar di lobulus, fibrosis

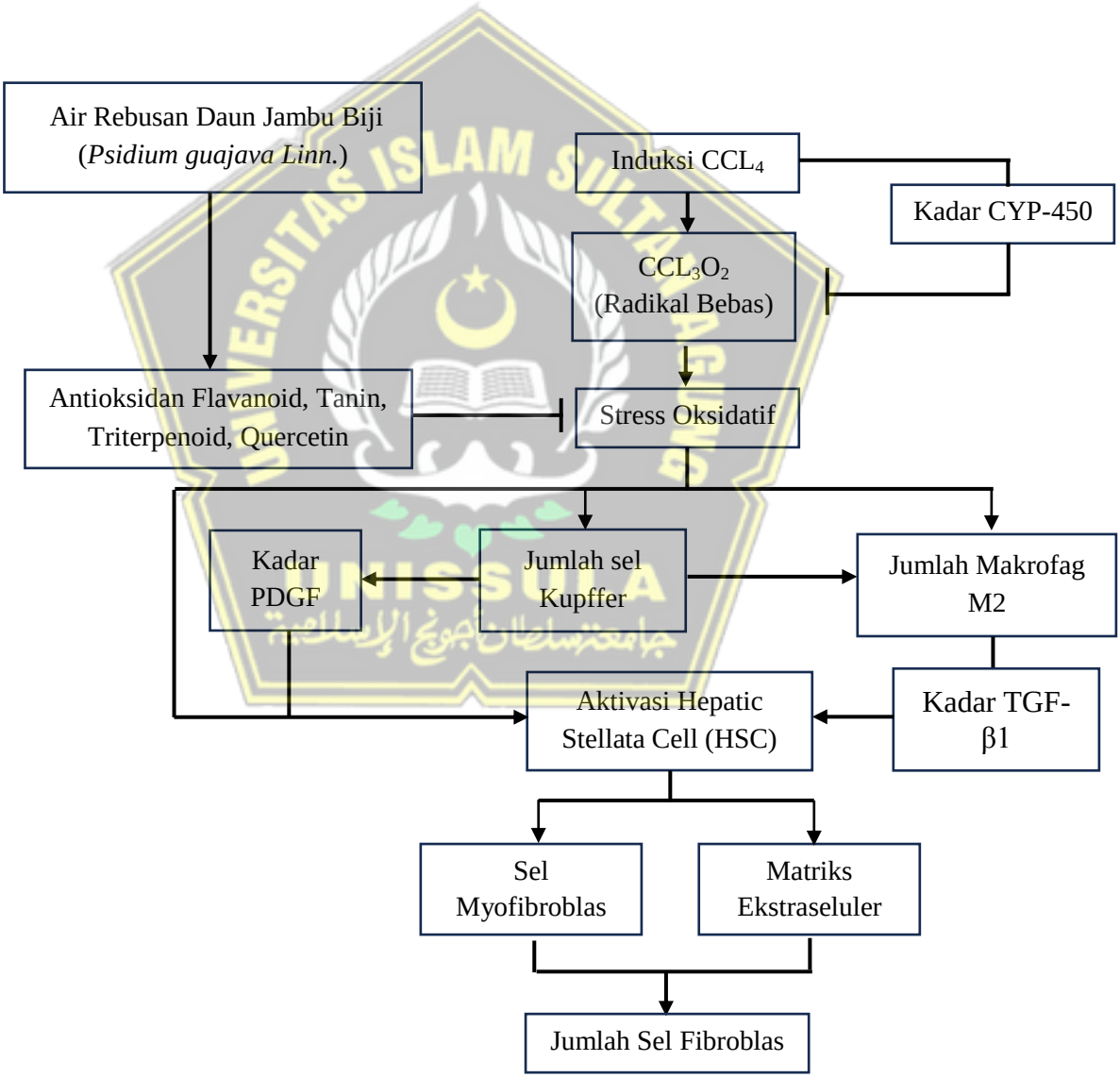
periportal mulai terbentuk, diikuti dengan bridging fibrosis yang menghubungkan wilayah sentral dan portal (Soon et al., 2021).

Makrofag M2 berperan dalam fase resolusi inflamasi dan regenerasi jaringan. Makrofag M2 diaktifkan melalui jalur pensinyalan yang berbeda, terutama oleh IL-4, yang memicu aktivasi alternatif makrofag melalui reseptor IL-4 (IL-4R). Aktivasi ini melibatkan sinyal dari keluarga Janus kinase (JAK) dan STAT6**,** yang memfasilitasi ekspresi gen terkait perbaikan jaringan dan anti-inflamasi. Makrofag M2 mengeluarkan berbagai faktor yang mendukung penyembuhan luka, seperti TGF-β dan *growth factor*, yang membantu dalam pengendapan kolagen dan membatasi peradangan. Makrofag M2 mendukung migrasi fibroblas, proliferasi sel, dan produksi kolagen, yang penting untuk pembentukan jaringan granulasi yang sehat dan penyembuhan luka yang lebih cepat. Dalam eksperimen yang melibatkan infus sel M2 eksogen pada model tikus, ditemukan bahwa penyembuhan luka berlangsung lebih cepat, dengan peningkatan kualitas dan jumlah kolagen yang terdeposit di area luka. Serat kolagen yang terbentuk lebih teratur dan lebih tebal dibandingkan dengan yang terbentuk pada kondisi M1, yang memperlihatkan efek positif M2 dalam mempercepat penyembuhan dan pemulihan integritas jaringan kulit (Gao *et al.*, 2023).

Air rebusan daun jambu biji dapat memperbaiki resistensi insulin hati. Adanya komponen bioaktif pada daun jambu biji yang dapat memberikan efek terapeutik pada fibrosis hepar seperti flavonoid memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi yang dapat mengurangi stress oksidatif dan

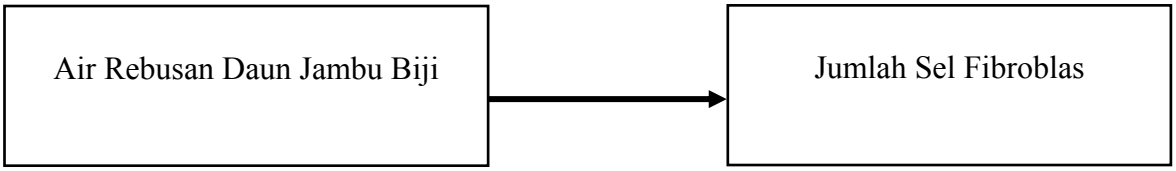
proses inflamasi di hepar (Ullah *et al.*, 2020). Adanya kandungan tanin pada daun jambu biji yang memiliki sifat astringen dan antioksidan yang berkontribusi sebagai hepatoprotektor (Das *et al.*, 2020). Serta, kandungan triterpenoid memiliki aktivitas yang hampir sama sebagai aktivitas hepatoprotektif dan antiinflamasi (Sánchez-Crisóstomo *et al.*, 2019).

2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.5. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.6. Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis

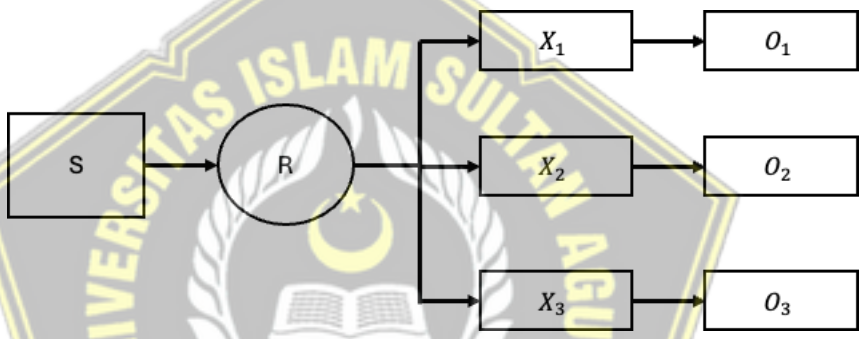
Terdapat pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji pada fibrosis hepar tikus jantan (*Rattus norvegicus)* Galur Wistar yang diinduksi fibrosis dengan CCl_4 terdapat jumlah sel fibroblas.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba dengan desain penelitian *post test control group design* terhadap 27 ekor tikus jantan galur Wistar yang kemudian dibagi menjadi 3 kelompok perlakukan seperti Gambar 3.1 berikut:



Gambar 3.1. Desain Penelitian

Keterangan:

S = subjek berupa tikus jantan galur wistar 27 ekor

R = randomisasi

X_1 = Kelompok kontrol negatif (tikus model fibrosis hepar dengan induksi CCl_4)

X_2 = Kelompok perlakuan 1 (tikus model Fibrosis Hepar dengan induksi CLL_4 dan pemberian air rebusan daun jambu biji berjumlah 20 lembar)

X_3 = Kelompok perlakuan 2 (tikus model Fibrosis Hepar dengan induksi CLL_4 dan pemberian air rebusan daun jambu biji berjumlah 25 lembar)

O_1 = Observasi kelompok kontrol negatif

O_2 = Observasi kelompok perlakuan 1

O_3 = Observasi kelompok perlakuan 2

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

Air Rebusan Daun Jambu Biji *(Psidium guajava Linn.*)

3.2.1.2. Variabel Terikat

Jumlah Sel Fibroblas

3.2.2. Definisi operasional

3.2.2.1. 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 7 hari secara per oral menggunakan sonde dengan dosis 1 ml diberikan 2 kali sehari pada pagi dan sore hari. Rebusan daun jambu biji diulang setiap hari selama penelitian.

Satuan : mL

Skala : Rasio

3.2.2.2. Jumlah Sel Fibroblas

Perhitungan jumlah sel fibroblas diukur menggunakan sampel jaringan hepar tikus yang diberi pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Perhitungan

jumlah sel fibroblas yang terindentifikasi dijumlah dan dihitung rata-ratanya dengan satuan jumlah/5 lapang pandang.

Satuan : jumlah sel/ 5 lapang pandang

Skala : Rasio

3.3. Subjek Uji

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus federer yang berjumlah 3 kelompok, sebagai berikut:

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

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

$$2n - 2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq \frac{17}{2}$$

$$n \geq 8.5$$

Keterangan:
n = Jumlah sampel
t = Jumlah kelompok/perlakuan

Sehingga Jumlah sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini 9 ekor tikus jantan galur wistar pada setiap kelompok maka total tikus yang dibutuhkan 27 ekor tikus yang selanjutnya akan dibagi dalam 3 kelompok perlakuan secara acak.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

Instrumen pada penelitian ini ialah Kandang tikus individu dengan tempat pakan dan minum, timbangan tikus, sonde lambung, spuit 5cc, scalpel, pinset, gunting, botol untuk menyimpan organ

hepar tikus, mikroskop cahaya, object glass, deck glass, kamera digital.

3.4.2. Bahan

Bahan pada penelitian ini ialah daun jambu biji, karbon tetraklorida (CCl_4) 0.1ml/100grBB, larutan cat pewarnaan preparat Hematoksilin & Eosin (H&E), pakan dan minuman hewan, pakan standar.

3.5. Cara 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

Daun tanaman jambu biji yang biasanya ditemukan di pekarangan rumah. Pembuatan air rebusan sebagai berikut :

1. Sebanyak 600 ml air direbus, kemudian 20 lembar daun jambu biji ditambahkan dan direbus selama 20 menit untuk dosis pertama.
2. Sebanyak 600 ml air direbus, kemudian 25 lembar daun jambu biji ditambahkan dan direbus selama 20 menit untuk dosis kedua.
3. Setelah suhu yang diinginkan tercapai, daun jambu biji dipisahkan dari air mendidih. Selanjutnya, dosis pertama dan kedua dipisahkan ke dalam dua wadah yang berbeda.

4. Rebusan daun jambu biji diulang setiap hari dengan tata cara yang sama selama penelitian dan dilakukan uji kadar 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 Karbon Tetraklorida (CCl_4)

1. Di dalam gelas ukur CCl_4 dilarutkan dengan minyak jagung dengan rasio perbandingan 1:9, dimana 1mL CCl_4 dan 9mL dengan konsetrasi 10% lalu diaduk hingga rata
2. CCl_4 disimpan di botol kaca gelap yang ditutupi alumunium foil agar tidak mengalami oksidasi
3. Kemudian disimpan didalam kulkas dengan suhu -9°C

3.5.5. Pembuatan dan Pengecatan Preparat

Pembedahan dengan tujuan pengambilan organ hepar pada tikus yang sudah dilakukan bius inhalasi chlorofom.

1. Tikus di bius dengan pemberian inhalasi chlorofom
2. Tikus diletakan diatas papan pembedahan yang dialasi oleh lilin
3. Lakukan fiksasi pada anggota gerak tikus sehingga memudahkan pembedahan
4. Lakukan pembedahan pada bagian abdomen dengan gunting lurus pada area torak dan abdomen pada aksis median diperluas

sampai ke lateral agar organ bagian dalam rongga abdomen terlihat

5. Ambil organ yang akan diteliti dan dipindahkan ke pot yang berisi formalin 10%
6. Pembedahan dilakukan sesuai dengan waktu yang sudah ditentukan untuk munculnya fibrosis
7. Setelah dilakukan pembedahan maka tubuh tikus dikuburkan dan area pembedahan dibersihkan.

Pembuatan preparat memiliki tahapan seperti berikut :

1. Hati yang telah diambil disimpan dalam formalin 10% selama 24jam.
2. Organ hepar didehidrasi dengan cara direndam dalam alkohol 50%, 70%, dan dua kali alkohol absolut secara bertahap, masing-masing selama 30 menit.
3. *Clearing* dilakukan dengan menggunakan perbandingan alkohol dan xylol (3:1, 1:1, 1:3), serta dua kali xylol, direndam masing-masing selama 60 menit.
4. Infiltrasi dilakukan dengan xylol dan paraffin dengan perbandingan 3:1, 1:1, 1:3, dan satu kali paraffin murni selama 1 jam perendaman pada suhu 46-52°C.
5. Blocking dilakukan menggunakan paraffin keras pada suhu 46-52°C selama 1 jam.

6. Organ dipotong menggunakan mikrotom dengan ukuran 3-5 mm, kemudian potongan diletakkan pada kaca objek.
7. Deparafinisasi dilakukan dengan merendam potongan dalam xylol, dua kali alkohol absolut, 70%, 50%, dan 30%, masing-masing selama 3 menit.
8. Pewarnaan dilakukan menggunakan safranin, kemudian diamati dengan mikroskop.

3.5.6. Pembuatan Blok Paraffin

1. Sampel hepar pada semua kelompok diambil untuk dibuat preparat histologi dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)
2. Sampel hepar tikus pada semua kelompok diambil dan difiksasi dalam larutan NBF 10%
3. Sampel hepar dibilas dengan alkohol 70% sampai bersih dari sisa larutan fiksatif
4. Sampel hepar dimasukan ke dalam alkohol 70%, 80%, dan 90%, 96% dan alkohol absolut masing-masing selama 30 menit
5. Sampel kulit dimasukan ke dalam toluol sampai jernih atau transparan selama 1 jam
6. Infiltrasi ke dalam parafin dilakukan di dalam oven pada suhu 56-60°C dengan cara memasukan sampel kulit ke dalam campuran toluol dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Sampel kulit dimasukan ke

dalam parafin murni I, parafin murni II, dan parafin murni III masing-masing perlakuan selama 30 menit.

7. *Embedding*, sampel hepar dari parafin murni ditanamkan ke dalam cetakan blok parafin yang telah berisi parafin cair dan ditunggu hingga parafin mengeras.
8. Sampel kulit dalam blok parafin diiris dengan ketebalan irisan sebesar 6µm menggunakan mikrotom
9. Irisan sampel jaringan ditempelkan pada gelas benda dengan cara mengoleskan Mayer's albumin dan ditetesi sedikit akuades lalu dipanaskan di atas *hot plate* hingga irisan menempel dengan sempurna.
10. Sediaan histologis dideparafinasi dengan cara dimasukan ke Xylol selama 24 jam.
11. *Staining* (pewarnaan) dilakukan dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Kandungan xylol diserap dengan kertas saring, kemudian berturut-turut dimasukan ke lakohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30% dan akuades masing-masing dilakukan selama 1-2 menit. Preparat dimasukan ke dalam warna Hematoksilin selama 5-10 detik, lalu dibilas dengan air mengalir selama 10 menit. Proses selanjutnya preparat dicelupkan ke alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70% masing-masing selama 3-5 menit. Preparat dimasukan ke dalam eosin 5-10 menit, keumudian dicelupkan ke alkohol 70%, 80%, 80%, dan 96%

masing-masing selama 3-5 menit., alalu dikeringkan dengan kertas saring. Preparat dimasukan ke dalam xylol selama 15 menit, kemudian sediaan histologis ditetesi canada balsam

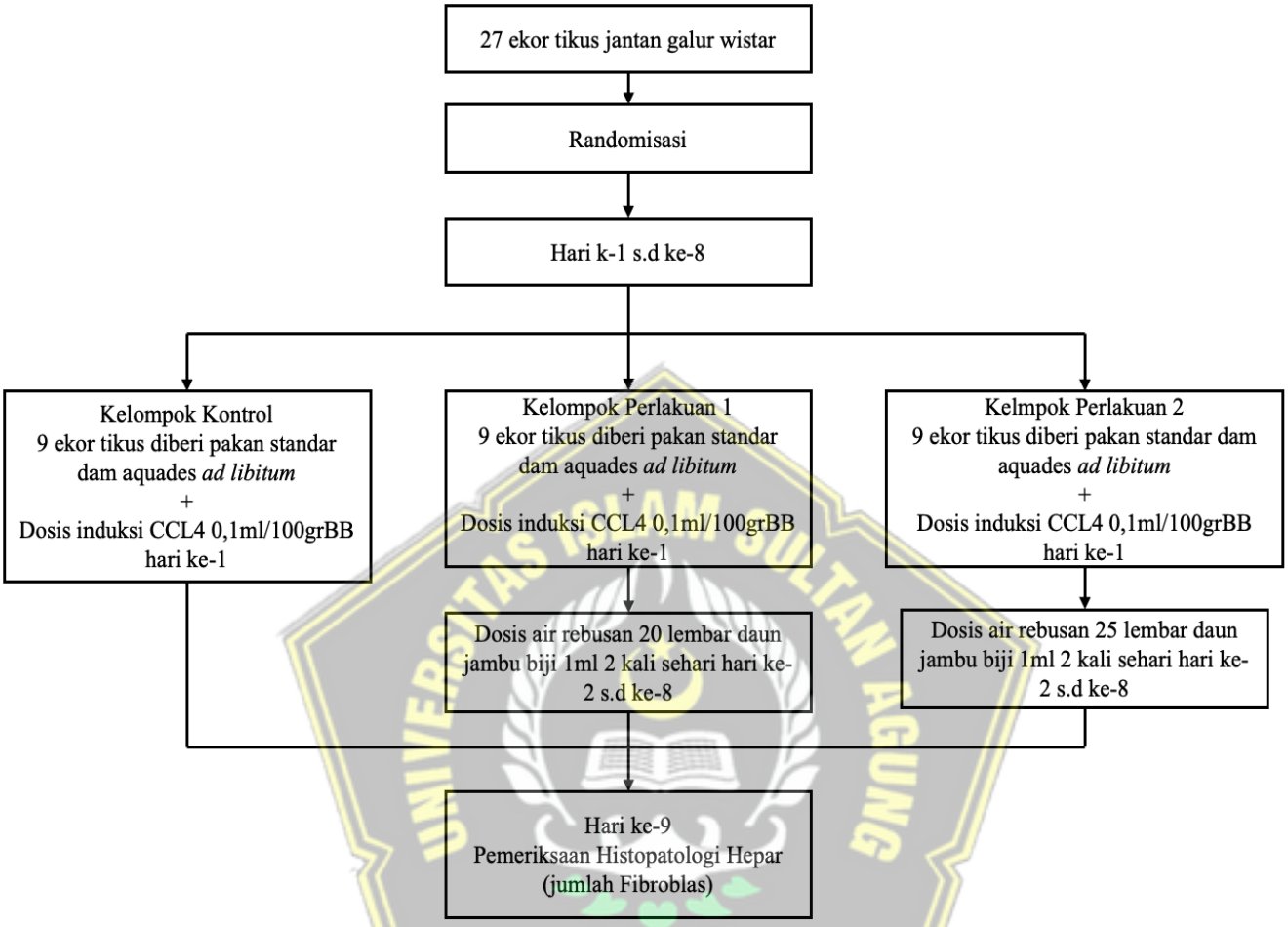
12. Preparat ditutup kaca penutup, diberi label dan disimpan dalam kotak sediaan.

3.5.7. Kelompok Perlakuan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar berjumlah 27 ekor, kemudian hewan uji dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang dilakukan secara randomisasi. Sebagai berikut:

a. Kelompok Kontrol Negatif (K-) : kelompok yang diinduksi $CCl_4$0,1 mL/100grBB
b. Kelompok Perlakuan 1 (P1) : kelompok yang diinduksi CCl_4 0,1 mL/100grBB + 1ml air rebusan daun jambu biji dosis pertama (20 lembar)
c. Kelompok Perlakuan 2 (P2) : kelompok yang diinduksi CCl_4 0,1 mL/100grBB + 1ml air rebusan daun jambu biji dosis pertama (25 lembar).

3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pembuatan preparat dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang dilakukan selama 30 hari dari bulan Agustus sampai September 2024.

3.8. Analisis Data

Data didapatkan dengan melakukan penghitungan jumlah sel fibroblas yang kemudian diuji deskriptif untuk dilihat nilai mean atau mediannya. Data kemudian diuji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak dengan jumlah sampel <50 dan uji *Levene's Test* digunakan untuk mengetahui homogenitas data. Data yang didapatkan tidak normal dan tidak homogen dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil yang didapatkan yaitu $p<0,05$ maka keputusan yang diambil adalah menerima H_1 dan dilanjutkan dengan uji *post hoc Mann-Whitney* untuk mengetahui perbandingan antar kelompok.

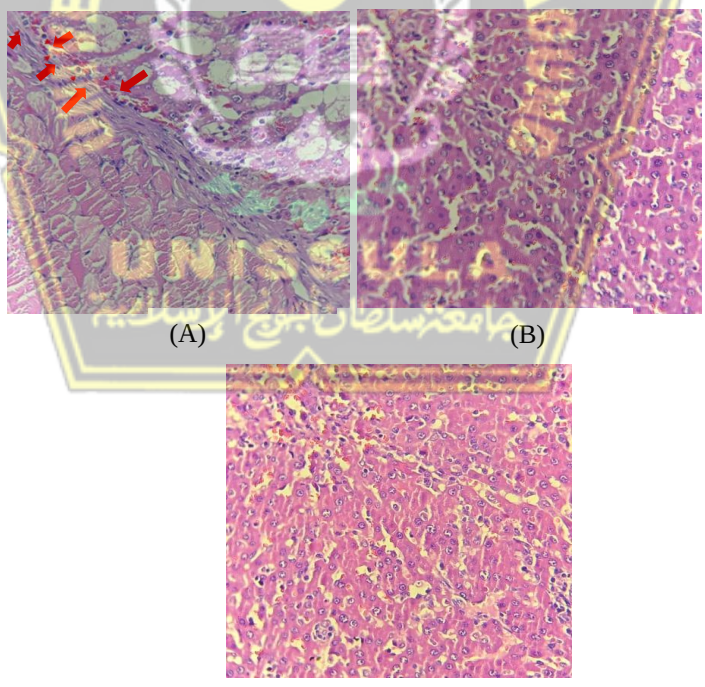
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Sampel pada penelitian ini berjumlah 27 ekor tikus jantan galur Wistar yang dilakukan induksi CCl_4 0,1ml/100grBB dan terdiri dari tiga kelompok yaitu K-, P1, dan P2. Rata-rata jumlah sel fibroblas dan gambar histopatologi pada setiap kelompok disajikan pada data berikut :

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi pada penelitian ini, didapatkan hasil sebagai berikut :



(A) (B)

(C)

Gambar 4.1. Hasil Pemeriksaan Histopatologi.
A : Kelompok kontrol (K -); B : Kelompok Perlakuan 1 (P1); C : Kelompok Perlakuan 2 (P2); Panah Merah : fibroblas; Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE); Perbesaran 400x.

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa sel fibroblas hanya didapatkan pada kelompok kontrol negatif (K-) yang ditunjukan dengan panah merah, sedangkan pada kelompok P1 dan P2 tidak didapatkan adanya fibroblas.

Rerata hasil pengukuran jumlah sel fibroblas pada antara kelempok seperti pada Tabel 4.1

Tabel 4.1. Rerata Jumlah Sel Fibroblas Post Perlakuan Kelompok

Kelompok	Nilai Rata-Rata Jumlah Sel Fibroblas	
	Mean	**SD**
K (-)	13.91	0.067
P1	0.00	0.00
P2	0.00	0.00

Berdasarkan hasil tabel 4.1 menunjukan bahwa pemberian induksi CCl_4 pada kelompok K(-) memiliki rerata jumlah sel fibroblas yang lebih tinggi dibandingkan pada P1 yang diberikan air rebusan jambu biji sebanyak 20 lembar dan P2 yang diberikan air rebusan daun jambu biji sebanyak 25 lembar.

Tabel 4.2. Hasil Analisis Uji Normalitas, Homogenitas, *Kruskal Wallis.*

Kelompok	*Shapiro Wilk*	*Levene Test*	*Kruskal Wallis*
K(-)	0,001*		
P1	0,000*	0,001**	0,001
P2	0,000*		

Keterangan : * = distribusi data tidak normal; ** = varian data tidak homogen.

Berdasarkan uji tersebut didapatkan uji *Shapiro-wilk* menghasilkan nilai signifikansi *(p)* sebesar 0,001 ($p < 0,05$) untuk kelompok K(-) dan 0,000 ($p < 0,05$) untuk kelompok P1 dan P2 yang berarti bahwa sebaran data tidak normal dan pada uji *levene test* menghasilkan nilai signifikansi (*p*)

sebesar 0,001 (p < 0,05) yang berarti bahwa data tersebut tidak homogen. Oleh karena itu, uji analisis selanjutnya dilakukan menggunakan uji *Kruskal Wallis.* Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai signifikansi *(p)* sebesar 0,001 (p < 0,05) yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna terhadap rerata jumlah sel fibroblas antar kelompok penelitian. Untuk mengetahui perbedaan rerata jumlah sel fibroblas antar 2 kelompok maka akan dilakukan uji *Post Hoc Mann-Whitney*.

Tabel 4.3. Hasil Uji *Post Hoc Mann-Whitney* Perbandingan Rerata Jumlah Sel Fibroblas Antar Dua Kelompok

Kelompok 1	Kelompok 2	Perbedaan rerata	*p-value*
K-	P1	13.91	<0,001#
K-	P2	13.91	<0,001#
P1	P2	0,00	1,000

Keterangan: *=perbedaan bermakna

Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc Mann-Whitney* terhadap kelompok penelitian didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rerata jumlah sel fibroblas antara kelompok K(-) dengan kelompok lain terhadap rerata jumlah sel fibroblas (p < 0,05). Pada kelompok kontrol K (-) yang induksi diberikan CCl_4 dan tidak diberikan perlakuan mengalami perbedaan yang bermakna dengan hasil rerata jumlah sel fibroblas lebih tinggi dibandingkan kelompok P1 dan P2. Pada kelompok P1 yang diberikan perlakuan air rebusan 20 lembar daun jambu biji tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan hasil rerata jumlah sel fibroblas pada kelompok P2 yang diberikan air rebusan 25 lembar daun biji.

4.2. Pembahasan

Hasil penelitian ini didapatkan terdapat perbedaan yang signifikan jumlah sel fibroblas antara kelompok kontrol negatif (K-) dibandingkan kelompok perlakuan P1 dan P2. Mekanisme induksi CCl_4 melibatkan serangkaian interaksi kompleks antara sel-sel imun, sel fibroblas, dan faktor-faktor pertumbuhan yang berkontribusi pada proses inflamasi pada hepar. Efek induksi dari CCl_4 akan menimbulkan penarikan neutrofil, limfosit T, makrofag, dan sel dendritik ke lokasi cedera dan memicu aktivasi sel fibroblas. Penelitian yang dilakukan oleh Chang *et al.* (2020) menunjukkan bahwa CCl_4 dapat menginduksi sel fibroblas untuk migrasi dan aktivasi dalam pembentukan jaringan parut di hati dan organ lainnya (Chang *et al.*, 2020). Tikus diberikan induksi CCl_4, terjadi peningkatan ekspresi CCl_4 yang signifikan, yang berkontribusi pada rekrutmen sel-sel imun, termasuk makrofag dan neutrofil, ke area yang mengalami kerusakan. Karbon tetraklorida (CCl_4) mengalami metabolisme kompleks di hepar melalui enzim sitokrom P-450 (CYP-450). Molekul CCl_4 dikonversi menjadi radikal triklorometil (CCl_3) yang sangat reaktif, memicu serangkaian kerusakan jaringan hepatik melalui proses inflamasi (Li *et al.*, 2021). Kerusakan jaringan hepar ini akan mengaktivasi pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF-α, yang lebih lanjut merangsang fibroblas untuk berproliferasi sehingga menyebabkan *Hepatic Stellate Cell* (HSC) teraktivasi dan berdiferensiasi menjadi myofibroblas untuk mensekresikan matriks ekstraseluler (Zhan *et al.*, 2021). Fibroblas yang

masih aktif tetapi tidak sampai proses pembentukan jaringan fibrosis (Gajjala *et al.*, 2021).

Induksi CCl_4 berperan penting dalam perkembangan fibrosis melalui berbagai mekanisme. Salah satu jalur utamanya adalah aktivasi TGF-β, yang memicu jalur Smad untuk meningkatkan ekspresi gen fibrosis seperti kolagen dan protein matriks ekstraseluler. Penelitian menunjukkan bahwa penghambatan TGF-β dapat secara signifikan mengurangi fibrosis, menyoroti peran CCl_4 sebagai pemicu jalur ini (Song *et al.*, 2022). Pada penelitian ini belum sampai terjadi fibrosis karena fibrosis hepar biasanya berkembang setelah paparan CCl_4 dalam jangka waktu lama. Jika pemberian CCl_4 masih dalam waktu terbatas, hepar masih mampu melakukan regenerasi sebelum terjadi akumulasi matriks ekstraseluler yang berlebihan (Safithri, 2018).

Pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.)* dapat mempengaruhi rerata jumlah sel fibroblas. Mekanisme air rebusan daun jambu biji (Psidium guajava Linn.) dan kandungan zat pada daun jambu biji memiliki potensi yang signifikan dalam memengaruhi sel fibroblas pada tikus dengan pada tikus yang dipapar oleh CCl_4. Daun jambu biji mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang telah terbukti memiliki efek terapeutik, termasuk sifat antioksidan dan antiinflamasi (Oktavia *et al.*, 2021). Sel Kupffer yang berperan dalam respons imun hati, masih dapat mengontrol pelepasan mediator inflamasi sehingga peradangan tidak berkembang menjadi fibrosis.

Jika paparan CCl_4 dihentikan sebelum terjadi aktivasi berlebihan sel stellata hepatik, akumulasi matriks ekstraseluler yang menyebabkan fibrosis dapat dicegah. Induksi CCl_4 berlangsung dalam waktu lama atau dengan dosis tinggi, mekanisme regenerasi hati dapat terganggu, mengarah pada kerusakan irreversibel, seperti fibrosis dan sirosis hati. Induksi CCl_4 bersifat reversibel hanya dalam kondisi tertentu, di mana hati masih memiliki kapasitas untuk memulihkan jaringan yang rusak sebelum terjadi perubahan patologis permanen (Oktavia *et al.*, 2021).

Pemberian perlakuan yang diberikan air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.)* pada kelompok perlakuan P1 berjumlah 20 lembar dan kelompok P2 dengan jumlah 25 lembar didapatkan hasil tidak ditemukan keberadaan sel fibroblas dibandingkan dengan K-. Hasil ini dapat menandakan bahwa air rebusan daun jambu berpengaruh menurunkan jumlah sel fibroblas pada tikus yang diinduksi CCl_4. Penurunan sel fibroblas pada jaringan hepar dapat membantu proses perbaikan kerusakan pada hati yang diakibatkan oleh induksi CCl_4 atau proses penyembuhan cedera hati setelah fase inflamasi. Hasil dari uji analisis *Post Hoc Mann Whitney* didapatkan hasil (p > 0,05) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan anara kelompok P1 dibandingkan dengan kelompok P2 terhadap rerata jumlah sel fibroblas. Hal ini menunjukkan bahwa variasi dosis dalam pengobatan sering kali tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam parameter biologis tertentu, termasuk jumlah sel fibroblas. Penelitian oleh Fatimatuzzahro *et al.*, (2021) mengindikasikan bahwa faktor-faktor

lain seperti komposisi kimia dan cara ekstraksi dapat mempengaruhi hasil, sehingga jumlah lembar daun yang digunakan mungkin tidak cukup untuk menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam jumlah sel fibroblas. Penelitian serupa oleh Lestari *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa efek terapeutik tidak selalu linear dengan peningkatan dosis, sehingga pemberian pemberian rebusan air jambu biji tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok P1 dengan 20 lembar daun dan kelompok P2 dengan 25 lembar daun. Berdasarkan penelitian Yang *et al.*, (2018) kombinasi senyawa dalam air rebusan seperti flavonoid, tannin, dan saponin dapat berinteraksi satu sama lain secara sinergis dan antagonis, sehingga dosis yang lebih tinggi tidak selalu menghasilkan efek yang lebih kuat, sehingga terdapat batasan pada dosis yang dapat memberikan manfaat terapeutik yang optimal.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa air rebusan daun jambu biji memiliki efek kuratif atau mampu memperbaiki cedera hati. Namun, penelitian ini masih memiliki keterbatasan, yaitu pengamatan jumlah sel fibroblas dilakukan di luar rentang umur sel tersebut, serta tidak mencakup analisis beberapa marker kerusakan hati, seperti neutrofil, ALT, AST, ALP, dan kadar total bilirubin, yang biasanya meningkat saat terjadi kerusakan hati.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

5.1.1. Pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) berpengaruh terhadap jumlah sel fibroblas pada tikus putih (*Rattus* norvegicus) jantan galur wistar model fibrosis hepar yang diinduksi dengan CCl_4.

5.1.2. Terdapat perbedaan rerata jumlah sel fibroblas pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok kontrol dan perlakuan 1 maupun perlakuan 2.

5.1.3. Tidak terdapat perbedaan rerata jumlah sel fibroblas pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2.

5.2. Saran

5.2.1. Mengamati jumlah sel fibroblas pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar di 24 jam atau pada 1-4 hari pasca induksi CCl_4.

5.2.2. Mengamati pengaruh air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah neutrofil pada tikus jantan galur wistar yang induksi CCl_4.

5.2.3. 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

Asrani, S.K., Devarbhavi, H., Eaton, J. & Kamath, P.S. 2019. Burden of liver diseases in the world. *Journal of hepatology*, 70(1): 151–171.

Baglieri, J., Brenner, D.A. & Kisseleva, T. 2019. The Role of Fibrosis and Liver-Associated Fibroblasts in the Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma. *International journal of molecular sciences*, 20(7).

Chang, T.T., Yang, H.Y., Chen, C. & Chen, J.W. 2020. CCL4 inhibition in atherosclerosis: Effects on plaque stability, endothelial cell adhesiveness, and macrophages activation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18): 1–19.

Das, A.K., Islam, M.N., Faruk, M.O., Ashaduzzaman, M. & Dungani, R. 2020. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135: 58–70. Tersedia di https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.008.

Dewidar, B., Meyer, C., Dooley, S. & Meindl-Beinker, N. 2019. Tgf-β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis—updated 2019. *Cells*, 8(11): 1–35.

Dong, S., Cai, F.F., Chen, Q.L., Song, Y.N., Sun, Y., Wei, B., Li, X.Y., Hu, Y.Y., Liu, P. & Su, S.B. 2018. Chinese herbal formula Fuzheng Huayu alleviates CCl 4-induced liver fibrosis in rats: A transcriptomic and proteomic analysis. *Acta Pharmacologica Sinica*, 39(6): 930–941. Tersedia di http://dx.doi.org/10.1038/aps.2017.150.

Dwitiyanti, D. 2019. Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) sebagai Antikanker Payudara. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(2): 79–88.

Farag, R.S., Abdel-Latif, M.S., Abd El Baky, H.H. & Tawfeek, L.S. 2020. Phytochemical screening and antioxidant activity of some medicinal plants' crude juices. *Biotechnology Reports*, 28: e00536.

Fatimatuzzahro, N., Pujiastuti, P. & Alicia, R.S. 2021. Potensi gel ekstrak cocoon laba-laba Argiope modesta 5% terhadap jumlah sel fibroblas dan kepadatan kolagen pada penyembuhan luka gingiva Potential of 5% Argiope modesta spiders cocoon extract gel on the fibroblasts number and collagen density in gingival wound healing . *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 33(3): 233.

Safithri, F. (2018). Mekanisme Regenerasi Hati secara Endogen pada Fibrosis Hati. *Jurnal Unimus*, *2*(4), 1–14. http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484_SISTEM_PEMBETUNGAN_TERPUSAT_STRATEGI_MELESTARI

Gajjala, P.R., Kasam, R.K., Soundararajan, D., Sinner, D., Huang, S.K., Jegga, A.G. & Madala, S.K. 2021. Dysregulated overexpression of Sox9 induces fibroblast activation in pulmonary fibrosis. *JCI Insight*, 6(20).

Gao, X., Lu, C., Miao, Y., Ren, J. & Cai, X. 2023. Role of macrophage polarisation in skin wound healing. *International Wound Journal*, 20(7): 2551–2562.

Jiang, L., Lu, J., Qin, Y., Jiang, W. & Wang, Y. 2020. Antitumor effect of guava leaves on lung cancer: A network pharmacology study. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(11): 7773–7797.

Koyama, Y. & Brenner, D.A. 2018. Liver inflammation and fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*, 127(1): 55–64.

Kurdi, A., Hassan, K., Venkataraman, B. & Rajesh, M. 2018. Nootkatone confers hepatoprotective and anti-fibrotic actions in a murine model of liver fibrosis by suppressing oxidative stress, inflammation, and apoptosis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32(2).

Lestari, N., Mattalitti, S.F.O., Bima, L., Wijaya, M.F. & Adinda, T. 2022. Efektivitas Ekstrak Daun Cocor Bebek (Kalanchoe pinnata) Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Fibroblas Soket Paska Pencabutan Gigi Tikus Wistar. *Sinnun Maxillofacial Journal*, 4(02): 94–103.

Limsitthichaikoon, S., Khampaenjiraroch, B., Damrongrungruang, T., Limphirat, W., Thapphasaraphong, S. & Priprem, A. 2018. Topical oral wound healing potential of anthocyanin complex: Animal and clinical studies. *Therapeutic Delivery*, 9(5): 359–374.

Liou, W.L. & Kumar, R. 2021. Non-alcoholic fatty liver disease and chronic hepatitis B: friends, Foes or strangers. *Digestive Medicine Research*, 4: 25–25.

Luo, Y., Peng, B., Liu, Y., Wu, Y. & Wu, Z. 2018. Ultrasound extraction of polysaccharides from guava leaves and their antioxidant and antiglycation activity. *Process biochemistry*, 73: 228–234.

Mamun, M.A. Al, Faruk, M., Rahman, M.M., Nahar, K., Kabir, F., Alam, M.A. & Subhan, N. 2019. High carbohydrate high fat diet induced hepatic steatosis and dyslipidemia were ameliorated by Psidium guajava leaf powder supplementation in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.

Mak, K.M., Kee, D. and Cheng, C.P., 2023. A review of hepatic fibrosis associated histopathology in aged cadavers. The Anatomical Record, 306(5), pp.1031-1053.

McGill, M.R. & Jaeschke, H. 2019. Animal models of drug-induced liver injury. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1865(5): 1031–1039. Tersedia di https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.08.037.

Momchilova, A., Markovska, T., Georgiev, G., Pankov, S., Staneva, G., Petkova, D., Krastev, P., Pinkas, A. & Pankov, R. 2021. Quercetin affects membrane lipids and apoptosis in three-dimensional fibroblast cultures. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 35(1): 943–952. Tersedia di https://doi.org/10.1080/13102818.2021.1939785.

Naoumov, N.V., Kleiner, D.E., Chng, E., Brees, D., Saravanan, C., Ren, Y., Tai, D. and Sanyal, A.J., 2024. Digital quantitation of bridging fibrosis and septa reveals changes in natural history and treatment not seen with conventional histology. Liver International, 44(12), pp.3214-3228.

Nurulita, N.A., Sundhani, E. & Mafazah, N.F. 2017. Efek Antiproliferasi dan induksi Cell Cycle Arrest Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava) Terhadap Sel Fibroblast NIH3T3 Sebagai Kandidat Anti Keloid. *Rakernas & Pit Ikatan Apoteker Indonesia*, (September 2017): 8–13. Tersedia di https://www.researchgate.net/publication/326697380.

Nurwaini, S. & Nasihah, R.H. 2019. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Jambu Biji Psidium guajava L. terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus. *University Research Colloqium*, 7(2): 24–30.

Oktavia, N., Zakiyah, T.S., Putri Hidayat, A.S. & Priyanto, A.D. 2021. Potensi Seduhan Beberapa Daun Terhadap Malondialdehyde Dan Superoxide Dismutase : Review Singkat. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 5(1): 9–19.

Pimpin, L., Cortez-Pinto, H., Negro, F., Corbould, E., Lazarus, J. V, Webber, L. & Sheron, N. 2018. Burden of liver disease in Europe: Epidemiology and analysis of risk factors to identify prevention policies. *Journal of hepatology*, 69(3): 718–735.

Putra, S.. 2020. Jurnal Ilmu-ilmu Hayati Pusat Penelitian Biologi-LIPI. *Jurnal ilmu-Ilmu Hayati*, 19(1): 109–125.

Ramadani, A.P., Jasno & Tahmid, A.H. 2021. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Rambut Jagung (Zea mays L.): Gambaran Histopatologi Hati Tikus Terhadap Induksi Karbon Tetraklorida (CCl4). *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, 82–91.

Ratu Chairany Syah Krishna & Puspita, L.F. 2023. Studi Kasus Penerapan Pemberian Air Rebusan Daun Jambu Biji Untuk Menurunkan Kadar Gula Darah Pada Pasien Diabetes Melitus. *Buletin Kesehatan: Publikasi Ilmiah Bidang kesehatan*, 7(2): 139–149.

Sánchez-Crisóstomo, I., Fernández-Martínez, E., Cariño-Cortés, R., Betanzos-Cabrera, G. & Bobadilla-Lugo, R.A. 2019. Phytosterols and Triterpenoids for Prevention and Treatment of Metabolic-related Liver Diseases and Hepatocellular Carcinoma. *Current pharmaceutical biotechnology*, 20(3): 197–214.

Scholten, D., Trebicka, J., Liedtke, C. & Weiskirchen, R. 2015. The carbon tetrachloride model in mice. *Laboratory Animals*, 49: 4–11.

Sharma, P., Nair, J., Sinh, A., Shivangi, Velpandian, T., Tripathi, R. & Mathur, R. 2022. Guava Leaf Extract Suppresses Fructose Mediated Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Growing Rats. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity*, 15(August): 2827–2845.

Song, Z., Liu, X., Zhang, W., Luo, Y., Xiao, H., Liu, Y., Dai, G., Hong, J. & Li, A. 2022. Ruxolitinib suppresses liver fibrosis progression and accelerates fibrosis reversal via selectively targeting Janus kinase 1/2. *Journal of Translational Medicine*, 20(1).

Soon, G.S.T. and Wee, A., 2021. Liver biopsy in the quantitative assessment of liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. Indian Journal of Pathology and Microbiology, 64(Suppl 1), pp.S104-S111.

Ullah, A., Munir, S., Badshah, S.L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B.G., Emwas, A.-H. & Jaremko, M. 2020. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(22).

Valenzuela, R., Illesca, P., Echeverría, F., Espinosa, A., Rincón-Cervera, M.Á., Ortiz, M., Hernandez-Rodas, M.C., Valenzuela, A. & Videla, L.A. 2017. Molecular adaptations underlying the beneficial effects of hydroxytyrosol in the pathogenic alterations induced by a high-fat diet in mouse liver: PPAR-α and Nrf2 activation, and NF-κB down-regulation. *Food & function*, 8(4): 1526–1537.

Yang, B., Xie, Y., Guo, M., Rosner, M.H., Yang, H. & Ronco, C. 2018. Nephrotoxicity and Chinese Herbal Medicine. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 13(10). Tersedia di https://journals.lww.com/cjasn/fulltext/2018/10000/nephrotoxicity_and_chinese_herbal_medicine.27.aspx.

Z, A. 2018. Global prevalence, treatment, and prevention of hepatitis B virus infection in 2016: a modelling study. *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, 3(6): 383–403.

Zhan, H., Li, H., Cheng, L., Yan, S., Zheng, W. & Li, Y. 2021. Novel Insights Into Gene Signatures and Their Correlation With Immune Infiltration of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Behcet's Disease. *Frontiers in Immunology*, 12(December).

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
UNISSULA
جامعة سلطان أجونج الإسلامية