

**PENGARUH PEMBERIAN DOSIS AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava* Linn.) TERHADAP JUMLAH SEL MONONUKLEAR
ORGAN HEPAR
Studi Eksperimental pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar
yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl₄**

Skripsi

Untuk memenuhi Sebagian persyaratan
Mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Atina Hanina Mirfaqho Achlis

30102100031

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH PEMBERIAN DOSIS AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava* Linn.) TERHADAP JUMLAH SEL MONONUKLEAR
ORGAN HEPAR**

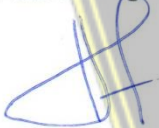
**Studi Eksperimental pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar
yang Diinduksi Fibrosis Menggunakan CCl₄**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Atina Hanina Mirfaqho Achlis
30102100031

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji pada tanggal 21 Februari 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, 21 Februari 2025

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Atina Hanina Mirfaqho Achlis

NIM : 30102100031

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“PENGARUH PEMBERIAN DOSIS AIR REBUSAN DAUN JAMBU BIJI
(*Psidium guajava* Linn.) TERHADAP JUMLAH SEL MONONUKLEAR
ORGAN HEPAR
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 pihak lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan Tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi dengan aturan yang berlaku

Semarang, 21 Februari 2025



Atina Hanina Mirfaqho Achlis

PRAKATA

Alhamdulillah rabbil'alamin, puji dan yukur kehadiran Allah SWT atas segala Rahmat-nya penulis telah diberi kesempatan, Kesehatan, kesabaran, serta kekuatan sehingga karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah sel mononuklear pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4 ” sebagai Sebagian persyaratan untuk emncapai gelar Sarjana Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Penulis menyadari akan kekurangan dan keterbatasan, sehingga selama menyelesaikan karya tulis ilmiah ini, penulis mendapat bantuan, bimbingan, dan petunjuk dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang telah memberikan ijin kepada penulis melakukan penelitian ini.
2. Dr. dr. Chodijah, M. Kes selaku dosen pembimbing pertama dan Dina Fatmawati, S.Si., M. Sc selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan serta arahan penulis dapat menyelesaikan penelitian ini
3. dr. Sumarno, M. Si, Med, Sp. PA, selaku dosen penguji pertama dan dr Arini Dewi Antari, M Biomed, selaku dosen penguji kedua yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan bimbingan serta arahan dalam penyelesaian karya tulis ilmiah ini.

4. Seluruh pihak yang berperan serta dalam proses penulisan karya ilmiah tertulis penulis.

Semoga Allah SWT berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih sangat terbatas dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diperlukan oleh penulis harapan.

Sebagai akhir kata, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua

Wasslamu 'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 21 Februari 2025

Penulis

Atina Hanina Mirfaqho Achlis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	ii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	1
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Histopatologi Hepar	5
2.2 Sel Mononuklear.....	5

2.3	Jambu Biji	7
2.3.1	Morfologi.....	8
2.3.2	Kandungan dan Manfaat Daun Jambu Biji	8
2.4	Pembuatan Model Fibrosis.....	10
2.4.1	Induksi CCl ₄	10
2.5	Mekanisme Kerusakan Hepar Oleh CC14	10
2.6	Mekanisme Perlindungan Hepar oleh CCl ₄	12
2.7	Efek Air Rebusan Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> Linn.) dengan Perubahan Jumlah Sel Mononuklear	12
2.8	Kerangka Teori.....	14
2.9	Kerangka Konsep	14
2.10	Hipotesis.....	15
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN.....	16
3.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	16
3.2	Variabel dan Definisi Operasional.....	16
3.2.1	Variabel Bebas.....	16
3.2.2	Variabel Terikat	17
3.3	Definisi Operasional	17
3.3.1	Dosis Air Rebusan Daun Jambu	17
3.3.2	Jumlah Sel Mononuklear.....	17
3.4	Populasi dan Sampel.....	17
3.4.1	Subjek Penelitian	18
3.4.2	Sampel Penelitian.....	18

3.5	Instrumen dan Bahan Penelitian	19
3.5.1	Instrumen Penelitian	19
3.5.2	Bahan Penelitian	19
3.6	Cara Penelitian.....	19
3.6.1	Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	19
3.6.2	Pembuatan Air Rebusan Daun Jambu Biji	19
3.6.3	Induksi Pada Tikus.....	20
3.6.4	Pemeriksaan Histopatologi Hepar	20
3.6.5	Pembuatan dan Pengecatan Preparat.....	21
3.7	Alur Penelitian.....	22
3.8	Tempat dan Waktu.....	23
3.9	Analisis Data	23
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1	Hasil Penelitian.....	24
4.1.1	Deskripsi dan Distribusi Data.....	25
4.1.2	Uji Kruskal-Wallis	25
4.1.3	Uji Mann-Whitney	26
4.2	Pembahasan.....	26
BAB V	PENUTUP.....	29
5.1	Kesimpulan.....	29
5.2	Saran	29
	DAFTAR PUSTAKA	30
	LAMPIRAN	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Histologi hepar normal	5
Gambar 2.2 Fibrosis Hepar akibat induksi CCl ₄	6
Gambar 2.3 Proses penetralan radikal bebas	13
Gambar 2.4 Kerangka teori	14
Gambar 2.5 Kerangka konsep	14
Gambar 3.1 Rancangan penelitian	16
Gambar 3.2 Alur penelitian	22
Gambar 4.1 Sel Mononuklear Organ Hepar	24



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil deskripsi dan distribusi data.....	25
Tabel 4.2 Uji Kruskal Wallis.....	25
Tabel 4.3 Hasil Uji Mann-Whitney	26



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat izin penelitian	35
lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i>	36
lampiran 3. Berat badan tikus jantan galur wistar	37
lampiran 4. Proses penelitian	38
lampiran 5. Gambar sel mononuklear.....	39
lampiran 6. Hasil hitung jumlah sel mononuklear	40
lampiran 7. Surat bebas Lab.....	41
lampiran 8. Hasil SPSS.....	42
lampiran 9. Surat undangan ujian skripsi	45



INTISARI

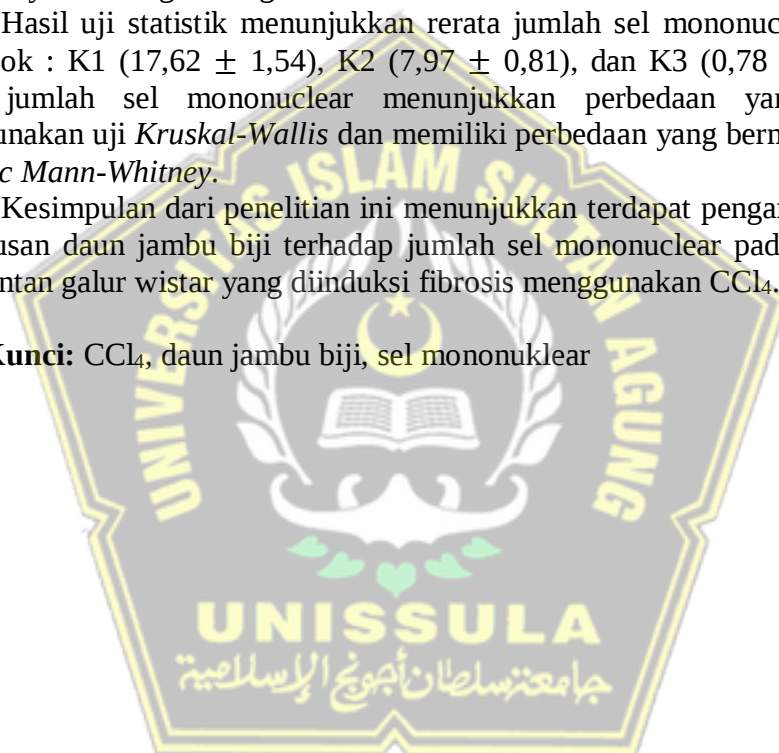
Kerusakan pada sel hepar dapat ditandai dengan meningkatnya jumlah sel mononuclear. Penyebab kerusakan hepar adalah dengan induksi CCl_4 dengan dosis 0,1 ml/100grBB. Namun pemberian antioksidan pada air rebusan daun jambu biji akan mengatasi kerusakan hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah sel mononuclear pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis dengan CCl_4 .

Penelitian ini merupakan *true experimental* dengan desain *post-test only control group*. Tikus jantan galur wistar dibagi menjadi tiga kelompok: K1 sebagai kontrol, K2 dan K3 akan diberi induksi CCl_4 dan air rebusan daun jambu biji sebanyak masing masing 20 dan 25 lembar.

Hasil uji statistik menunjukkan rerata jumlah sel mononuclear pada tiap kelompok : K1 ($17,62 \pm 1,54$), K2 ($7,97 \pm 0,81$), dan K3 ($0,78 \pm 0,73$). Data rerata jumlah sel mononuclear menunjukkan perbedaan yang signifikan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan memiliki perbedaan yang bermakna pada uji *post hoc Mann-Whitney*.

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji terhadap jumlah sel mononuclear pada organ hepar tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4 .

Kata Kunci: CCl_4 , daun jambu biji, sel mononuklear



DAFTAR SINGKATAN



ALP	: Alkaline Phosphatase
ALT	: Alanine Aminotransferase
AST	: Aspartate Aminotransferase
CCl ₃	: Trichloromethyl
CCl ₃ O ₂	: Triklorometilperoxi
CCl ₄	: Carbon Tetrachloride
CD11	: Cluster of Differentiation 11
CYP	: Cytochrome P
CYP450	: Cytochrome P450
DAMP	: Damage-Associated Molecular Pattern
DAMPs	: Damage-Associated Molecular Patterens
DNA	: Dexyribonucleic Acid
FFAb	: Free Fatty Acids
GPCR	: G-Protein Coupled Receptor
HCl	: Hydrochloric Acid
HSC	: Hepatic stellate cells
HE	: Hematoxylin and Eosin
HMG-1	: High Mobility Group Box 1
ICAM-1	: Intercellular Adhesion Molecule 1
IL-1 β	: Interleukin-1 Beta
IL-6	: Interleukin 6
NAPDH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
PAMPs	: Pathogen-Associated Molecular Patterns
PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
RE	: Reticuloendothelial System
RNA	: Ribonucleic Acid
ROS	: Reactive Oxygen Species
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta

TGF- β 1 : Transforming Growth Factor Beta 1
TLR-4 : Toll-Like Receptor 4
TNF : Tumor Necrosis Factor
TNF- α : Tumor Necrosis Factor Alpha



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fibrosis hepar merupakan suatu kondisi patologis yang ditandai dengan penumpukan jaringan ikat di hepar yang salah satunya disebabkan oleh zat toksik seperti karbon tetraklorida (CCl_4) (Zhang *et al.*, 2023). Karbon tetraklorida (CCl_4) dapat ditemukan di perlengkapan pembersih rumah tangga dan penghilang noda untuk karpet, pakaian, furniture (Sherry *et al.*, 2018). Karbon tetraklorida yang terserap dalam tubuh akan memicu produksi radikal bebas sehingga menyebabkan peroksidasi lipid dan meningkatkan sekresi sitokin proinflamasi sehingga respon inflamasi meningkat (Popović *et al.*, 2019). Inflamasi pada hepar dapat ditandai dengan peningkatan jumlah sel mononuclear yang nantinya akan menyebabkan kerusakan pada sel hepar (Marra *et al.*, 2009). Kerusakan tersebut dapat dicegah dengan senyawa hepatoprotektor yang dapat ditemukan pada daun jambu biji yaitu antiinflamasi dan antioksidan berupa flavonoid (Vijayakumar *et al.*, 2020). Penelitian oleh Anand (2016) menyatakan bahwa, flavonoid yang dapat ditemukan pada daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) dapat memperbaiki fungsi hepar dengan menurunkan kadar *alkaline phosphatase* (ALP), *alanine transaminase* (ALT), dan *aspartate aminotransferase* (AST) yang merupakan penanda terhadap kerusakan sel hepar, namun, saat ini penelitian yang meneliti terkait dengan pengaruh pemberian dosis air rebusan daun jambu biji

(*Psidium guajava* Linn.) terhadap perubahan jumlah sel mononuklear pada organ hepar masih sangat terbatas.

Fibrosis pada hepar dapat diakibatkan oleh virus hepatitis, penyakit metabolic, *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH), *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) (Altamirano-Barrera *et al.*, 2017). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI) telah mengemukakan bahwa pada tahun 2024 prevalensi NAFLD cukup tinggi yaitu sekitar 30,6% dan sering terjadi pada penderita obesitas, diabetes melitus, dan dislipidemia. Younossi (2023), menyatakan bahwa pada tahun 2023, prevalensi global mengenai NAFLD sebesar 30-32% dan diprediksi akan terus meningkat seiring tahun. Kerusakan hepar akibat NAFLD dapat memberikan dampak buruk, salah satunya adalah sirosis hepatis yang merupakan salah satu penyebab terjadinya kematian paling besar di dunia akibat penyakit hati sehingga penelitian ini perlu dilakukan untuk menghindari kerusakan tersebut.

Fibrosis hepar akibat paparan CCl₄ merupakan dampak dari inflamasi akut yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh (Parola & Pinzani, 2019). Dosis CCl₄ sebanyak 0,1 ml/100grBB dapat menjadi penyebab terjadinya kerusakan pada sel hepatosit yang dapat ditandai dengan adanya akumulasi sel radang, steatosis, dan sel ballooning (Fahrudin *et al.*, 2020). Pemberian flavonoid dapat menghambat kerusakan sel hepatosit, ketika radikal bebas muncul flavonoid akan melepaskan atom hidrogen (H) yang akan menstabilkan radikal bebas sehingga menghambat reaksi berantai yang dapat merusak sel (Gajender *et*

al., 2023). Hasil dari penelitian (Anand *et al.*, 2016) telah mengemukakan bahwa ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajva Linn.*) memiliki efek hepatoprotektif dimana dengan dosis 250 mg/kg dan 500 mg/kg dapat secara signifikan pada dosis yang lebih tinggi. Dosis efektif air rebusan daun jambu biji untuk memperbaiki kerusakan hepar adalah 20 lembar dan 25 lembar daun segar (Prasetyo & Surati, 2023).

Merujuk pada latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian uji eksperimental tentang pengaruh air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) terhadap jumlah sel mononuklear organ hepar pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) berpengaruh terhadap jumlah sel mononuklear organ hepar pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan adanya pengaruh pemberian dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava linn.*) terhadap jumlah sel mononuklear organ hepar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini ialah untuk dapat mengetahui perbedaan jumlah sel mononuklear organ hepar pada tikus jantan galur

wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4 antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II.

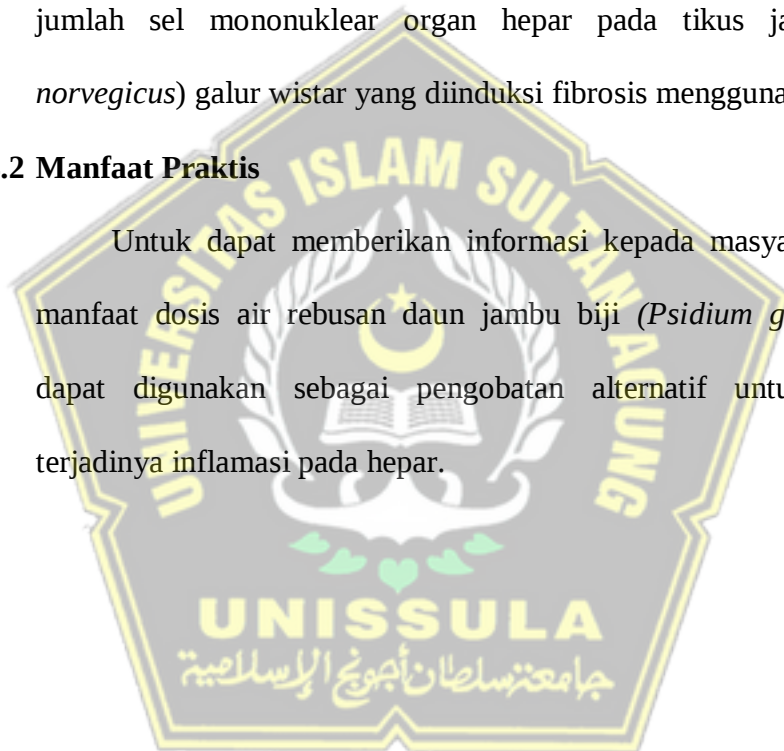
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Untuk dapat memberikan informasi tentang pengaruh pemberian dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) terhadap jumlah sel mononuklear organ hepar pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl_4 .

1.4.2 Manfaat Praktis

Untuk dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk mencegah terjadinya inflamasi pada hepar.

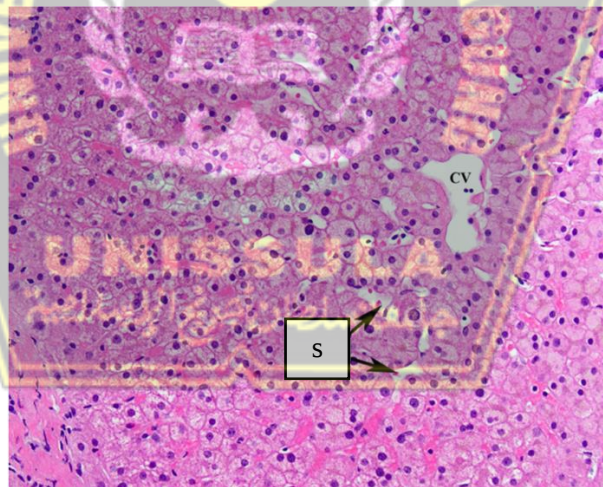


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Histopatologi Hepar

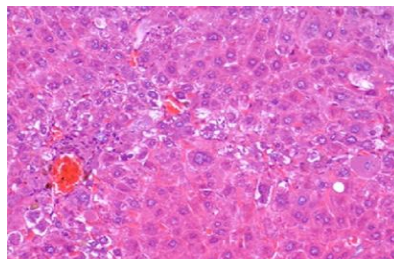
Hepar manusia merupakan organ dalam terbesar dengan berat secara rata rata yaitu sekitar 1,5 kg, terletak tepat dibawah diafragma di kuadran kanan atas abdomen, mempunyai 2 lobus yaitu pada lobus kanan dan lobus kiri, sistem perdarahan hepar di alirkan melalui hilus yang biasa disebut porta hepatis, di sisi inferior porta hepatis terdapat suplai darah ganda dari vena porta hepatic, dan arteri hepatica yang akan memasuki organ hepar dan keluarnya vena hepatic, limfatik dan saluran hepatic komunis (Mescher & Junqueira, 2016).



Gambar 2.1 Histologi hepar normal
S : Sinusoid, CV : Vena Centralis
Pewarnaan H&E, Perbesaran 400x
(Washabau *et al.*, 2012)

Berdasarkan gambaran mikroskopis, hepar terdiri dari sel epithelial yang disebut dengan sel hepatosit, sel ini tersusun sebagai lempeng tipis yang dipisahkan oleh sinusoid yang merupakan tempat darah mengalir, hubungan

antara sel hepatosit dan sinusoid memudahkan absorpsi nutrisi dari pencernaan, serta sekresi produk ke dalam darah (Young *et al.*, 2014). Retikulum endoplasma kasar membantu sintesis protein plasma dan lebih banyak ditemukan pada hepatosit yang berdekatan dengan area portal, sedangkan retikulum endoplasma halus terdistribusi secara difus ke seluruh sitoplasma. Hepatosit memiliki sejumlah besar retikulum endoplasma kasar dan halus (ER) (Mescher & Junqueira, 2016). Sinusoid hepar berisi kapiler darah yang berfungsi untuk menerima darah beroksigen dan terdeoksigenasi dari arteri hati dan juga pada vena porta, yang kemudian akan dialirkan ke vena sentral, kemudian mengalir ke vena cava inferior, dan terdapat juga sel kupffer yang berfungsi untuk fagositosis serta berperan sebagai sistem imun adaptif (Tortora & College, 2017). Zat toksik yang masuk kedalam hepar, nantinya akan di fagosit oleh sel kupffer yang berada di dan mengeluarkan sitokin pro inflamasi, sehingga respon ini dapat menyebabkan stress oksidatif (Boll *et al.*, 2001). Kerusakan hepar juga dapat dilihat menggunakan mikroskop ketika hepar dipapar oleh suatu zat toksik, seperti CCl_4 , manifestasi kerusakan hepar secara histopatologis dapat dilihat dibawah mikroskop berupa fibrosis dan berkembang menjadi sirosis (Zhang *et al.*, 2023).



Gambar 2.2 Fibrosis Hepar akibat induksi CCl_4

Pewarnaan H&E, Perbesaran 40x
(Fujii *et al.*, 2010)

2.2 Sel Mononuklear

Sel mononuklear mencakup monosit, makrofag, dan limfosit (Damjanov, 2009). Monosit yang beredar di darah nantinya akan bermigrasi ke hepar dan mengalami proses diferensiasi dan maturasi menjadi makrofag, yaitu sel kupffer yang terdapat pada sinusoid hepar (Triantafyllou *et al.*, 2018). Makrofag akan mensekresi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL6, dan *growth factor* seperti *hepatocyte growth factor* (HGF) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang nantinya akan memperburuk kerusakan hati namun juga akan merangsang aktivasi HSC (*hepato stelatae cell*) sehingga terbentuk fibrosis (Tacke & Zimmermann, 2014). Limfosit T, seperti CD4⁺ dan CD8⁺ akan mengatur fibrosis dengan cara mengeluarkan berbagai sitokin pro-fibrotik seperti TGF- β , dan IL-17 juga anti fibrotik seperti IFN- γ dan IL-10 (Lee & Seki, 2023; Yang *et al.*, 2023).

Sel mononuklear berperan penting saat hepar mengalami kerusakan, terutama dalam proses inflamasi dan fibrosis, ketika hepar cedera karena bahan toksik, infeksi, atau masalah metabolisme, sel mononuklear akan ke lokasi cedera dan memicu respon inflamasi, seperti monosit dari darah bermigrasi ke hati dan berubah menjadi makrofag yang membantu menfagosit patogen dan sel yang rusak (Roitt & Delves, 1998).

Menurut Osman (2023) pada cedera hepar, peningkatan sel mononuklear berhubungan dengan tingkat keparahan inflamasi dan progres

fibrosis, sedangkan penurunan jumlah sel mononuklear dapat menunjukkan penurunan aktivitas inflamasi dan memperlambat perkembangan fibrosis hepar. Pada cedera hepar kronis terjadi peningkatan jumlah sel mononuclear di hepar sebagai respon tubuh terhadap kerusakan hepar untuk upaya memperbaiki jaringan yang rusak. Namun, apabila kerusakan hepar terus berlanjut sel mononuclear yang teraktivasi akan memperburuk inflamasi dan memperburuk kerusakan hepar.



Gambar 2.3 Histopatologi Hepar Tikus
Panah hitam : Infiltrasi sel mononuklear
Pewarnaan H&E, Perbesaran 400x

2.3 Jambu Biji

2.3.1 Morfologi

Daun pada tanaman jambu biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai struktur daun tunggal yang pada saat ditekan maka akan mengeluarkan aroma yang khas, dengan letak daun bersilangan dan berhadapan serta tulang daun yang berpotongan menyirip, di mana tanaman jambu biji ini

mempunyai bentuk daun yang berbeda-beda, yaitu terdapat helai daun berbentuk lonjong, jorong, dan bundar terbalik (Fadhilah *et al.*, 2018).

Jambu biji memiliki tipe buah *berry* (buni) yaitu buah yang memiliki daging buah. Adapun daging buah ini dapat dimakan, jambu biji mempunyai banyak varietas yang dapat di bedakan berdasarkan bentuk buahnya, buah jambu biji bervariasi dalam bentuk, ukuran buah, warna daging buah, dan rasa tergantung dengan varietasnya (Fadhilah *et al.*, 2018). Tanaman jambu biji (*Psidium guajava L.*) memiliki batang berbentuk lonjong sedangkan batang kayu keras tua berbentuk insang dan berwarna coklat, permukaan batangnya halus dan memiliki kulit yang mudah di kelupas, masing-masing varietas australia memiliki diameter batang terkecil dengan nilai berkisar antara 9,5 – 12 cm (Fadhilah *et al.*, 2018).

2.3.2 Kandungan dan Manfaat Daun Jambu Biji

Anand *et al* (2016) menyebutkan bahwa, daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) mempunyai kegunaan sebagai antioxidant, antimikroba, antidiare, antiinflamasi, antidiabetes, dan anticancer. Selain itu, daun jambu biji (*Psidium guajava Linn.*) mempunyai efek sebagai hepatoprotektor, yang secara signifikan akan menurunkan kadar AST, ALT, ALP dan bilirubin dengan dosis 250mg/kg dan 500mg/kg. Pada cedera hepar kronis akibat CCl₄, dosis ekstrak lebih tinggi lebih efektif. Pada kerusakan hepar akut karena berbagai hepatotoksin, ekstrak daun berair (*Psidium guajava Linn.*) mengurangi peningkatan

AST, ALT, ALP, dan bilirubin dengan efek hepatoprotektif lebih baik pada ekstrak metanol. Ekstrak air daun (*Psidium guajava* Linn.) juga memiliki sifat hepatoprotektif pada dosis rendah dan hepatotoksik pada dosis tinggi.

2.4 Pembuatan Model Fibrosis

2.4.1 Induksi CCl₄

CCl₄ mempunyai banyak kegunaan, diantaranya yaitu sebagai cat, alat pemadam kebakaran, tinta, pendingin, pestisida, *agricultural fumigant*. CCl₄ juga dapat berfungsi sebagai bahan pelarut karet, aspal, lemak, minyak dan juga dapat dijadikan sebagai bahan tambahan pada bensin lalu juga dapat digunakan dalam pembuatan semikonduktor (Sherry *et al.*, 2018). CCl₄ di dalam tubuh akan dimetabolisme oleh enzim CYP450 yaitu CYP2E1 dan diubah menjadi bahan yang lebih toksik yaitu CCl₃ dan berikatan dengan oksigen di dalam tubuh menjadi CCl₃O₂ yang nantinya akan bereaksi dengan lipid sehingga membentuk lipid peroksidase dan menyebabkan kerusakan pada sel hepar (Su *et al.*, 2016) menyebutkan bahwa induksi CCl₄ dengan cara pemberian intraperitoneal akan menyebabkan kerusakan pada hepar berupa inflamasi kronik, hingga fibrosis. Sebagai respon kerusakan pada sel hepar, sel sel mononuklear terutama makrofag dan neutrofil merangsang untuk mengeluarkan sitokin proinflamasi, seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, selain itu kerusakan sel hepar akan mengaktivasi HSC (*Hepatic Stellate Cells*) dan akan menginduksi dari terjadinya fibrosis hepar

melalui sinyal dari TGF- β untuk berdiferensiasi menjadi sel miofibroblast yang menghasilkan kolagen dan matriks ekstraselluler lainnya seperti fibronectin dan laminin. Fibronectin nantinya akan menggantikan sel hepar yang rusak dan membentuk fibrosis (Aziz-Seible & Casey, 2011).

2.5 Mekanisme Kerusakan Hepar Oleh CCl₄

Maulina (2018) menyebutkan bahwa, CCl₄ (Karbon tetraklorida) adalah bahan kimia yang bersifat toksik; namun, bahan kimia ini tetap digunakan secara luas dalam berbagai aplikasi, seperti refrigeran industri, alat pemadam kebakaran, fumigan pertanian, pestisida, cat, tinta, pelarut, karet, dan minyak. Karbon tetraklorida (CCl₄) ialah jenis agen hepatotoksik yang paling umum digunakan pada studi mengenai hepatotoksitas. Adapun CCl₄ dapat menyebabkan kerusakan hepar akibat radikal bebas. CCl₄ yang masuk ke dalam tubuh, nantinya akan memerlukan aktivasi oleh sitokrom CYP450 yaitu CYP2E1 di hepar. Akibat dari aktivasi ini adalah mengubah CCl₄ menjadi metabolit yang lebih toksik, yang mampu menjadi penyebab terjadinya kerusakan hati pada hewan percobaan dan manusia. Pembentukan radikal bebas menyebabkan stress oksidatif dan menyebabkan masalah hepar. Proses induksi peradangan hepar pada hewan coba CCl₄ sering digunakan karena memiliki gambaran histologis yang menyerupai kerusakan hepar akibat infeksi virus hepatitis pada manusia. Kerusakan hepar yang disebabkan oleh CCl₄ meliputi nekrosis, perubahan morfologi yang menunjukkan kematian sel, gangguan sintesis lipoprotein yang mengangkut trigiserid dari hepar, dan

perkembangan sirosis hepar, yaitu kondisi dimana menurunnya fungsi regeneratif sel hepar secara tidak efisien.

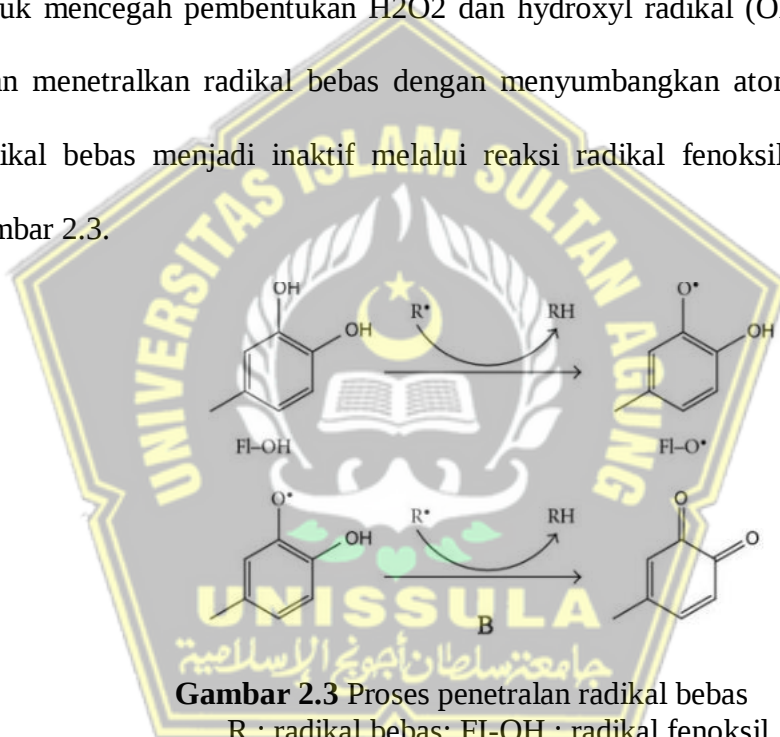
2.6 Mekanisme Perlindungan Hepar oleh CCl_4

Paparan hepar oleh CCl_4 di dalam tubuh akan merespon dengan memulai mekanisme perlindungan hepar yang menyebabkan sel kupffer sebagai makrofag hepar teraktivasi dan mengsekresikan sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dan TGF- β yang berfungsi untuk mencegah kerusakan hepar secara berlebihan, makrofag juga akan mengeluarkan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α yang berperan mengangkut sel-sel imun tambahan ke area kerusakan dan merangsang proses perbaikan jaringan, pada tahap awal cedera hepar sel hepatosit yang rusak akan melepaskan RNA, DNA atau *danger associated molecular pattern* (DAMP) sebagai pola molekuler terkait bahaya, seperti alarmin atau HMBG-1 yang terletak di luminal endotel sinusoidal hepar, setelah itu, sel kupffer akan mensekresi sitokin pro inflamasi seperti IL-1 β , dan TNF- α yang akan meningkatkan kerusakan parenkim dengan menginduksi nekrosis (Pellicoro *et al.*, 2014).

2.7 Efek Air Rebusan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) dengan Perubahan Jumlah Sel Mononuklear

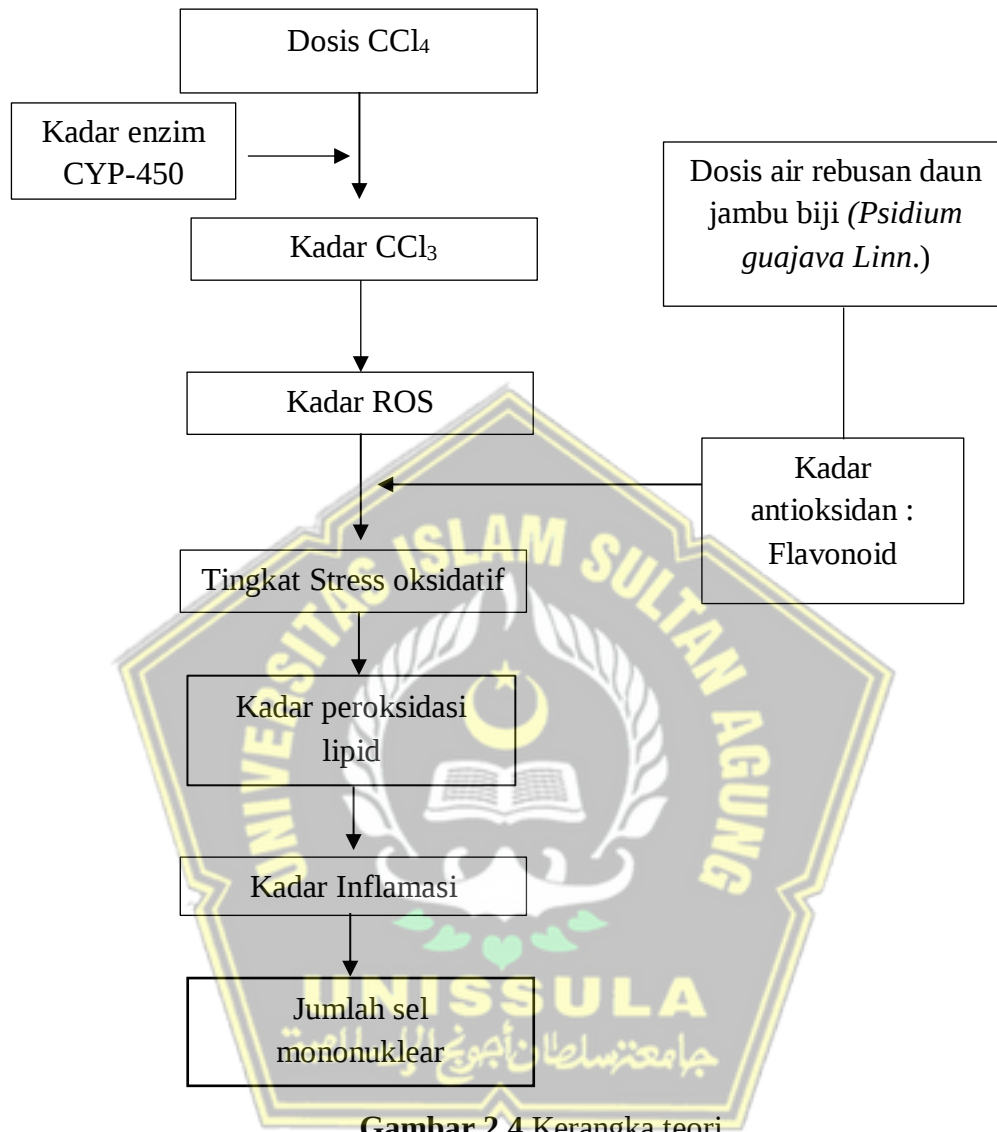
Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian CCl_4 menyebabkan kerusakan sel hepar yang ditandai dengan perubahan histopatologi sel dan juga menyebabkan teraktivasinya sel mononuklear (Chang *et al.*, 2021). *Reactive oxygen species* (ROS) yang merupakan salah satu radikal bebas, apabila terjadi paparan secara terus menerus akan

menyebabkan stress oksidatif sehingga dapat menyebabkan gangguan pada hepar berupa fibrosis (Scholten *et al.*, 2015). Trembl & Šmejkal (2016) menyebutkan, dalam mencegah radikal bebas, flavonoid yang terdapat pada daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) akan menstabilkan ROS dengan menghilangkan spesies pengoksidasi senyawa xenobiotic. Pada penghambatan ROS, flavonoid mengaktifkan enzim endogen seperti Cat, SOD, dan GPx untuk mencegah pembentukan H₂O₂ dan hydroxyl radikal (OH). Flavonoid akan menetralkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom H sehingga radikal bebas menjadi inaktif melalui reaksi radikal fenoksil seperti pada gambar 2.3.



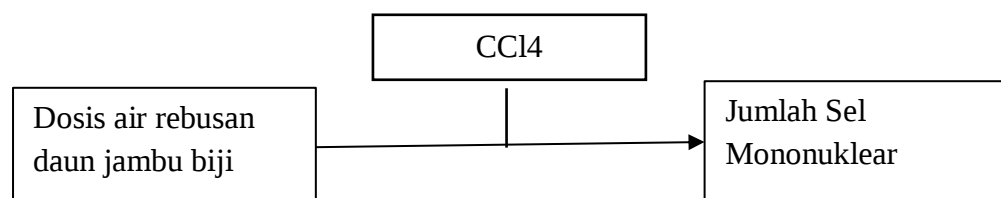
Gambar 2.3 Proses penetralan radikal bebas
R : radikal bebas; FI-OH : radikal fenoksil
(Syam, 2011)

2.8 Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka konsep

2.10 Hipotesis

Dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) berpengaruh pada jumlah sel mononuklear hepar tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.

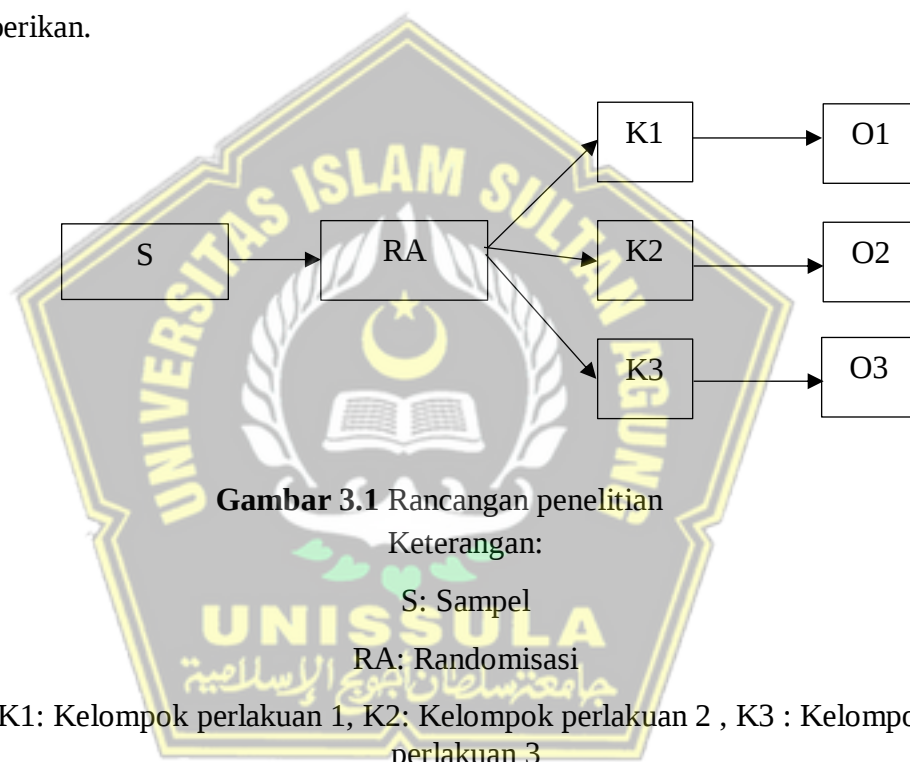


BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan desain penelitian eksperimen dengan metode *post-test only control group design* dimana terdapat kelompok kontrol dan kelompok perlakuan untuk sampel yang diberikan.



O1 : Pengamatan hasil K1, O2: Pengamatan hasil K2, O3: Pengamatan hasil K3

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini ialah pemberian dosis air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava linn.*).

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini ialah jumlah sel mononuklear hepar pada tikus yang mengalami fibrosis hepar setelah diberi induksi CCl₄.

3.3 Definisi Operasional

3.3.1 Dosis Air Rebusan Daun Jambu

Air rebusan daun jambu biji merupakan hasil dari rebusan daun jambu biji dengan menggunakan 20 dan 25 lembar daun dalam air. Air rebusan daun jambu biji diberikan secara peroral dengan dosis 1 ml dan akan diberikan 2 kali sehari pada pagi dan sore hari secara berkala selama 7 hari. Rebusan daun jambu biji diulang setiap hari selama penelitian.

Skala : Rasio

3.3.2 Jumlah Sel Mononuklear

Perubahan jumlah sel mononuklear dinilai menggunakan gambaran histopatologi hepar tikus menggunakan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400X. perhitungan jumlah sel mononuclear yang diidentifikasi dihitung dengan satuan jumlah/ 5 lapang pandang.

Skala : Rasio

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Subjek Penelitian

Subjek dari penelitian ini ialah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan rentang usia 6-8 minggu dengan berat badan 200 gram dalam keadaan sehat dan tidak memiliki kecacatan fisik. Tikus dipelihara di Laboratorium Hewan FK Universitas Sultan Agung Semarang tikus diberikan makan dan minum standar.

3.4.2 Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Penentuan jumlah sampel dilakukan dengan cara menggunakan rumus Federer

$$(t-1)(n-1) > 15$$

Keterangan :

T : Jumlah kelompok perlakuan N : jumlah sampel tiap kelompok

$$(t-1)(n-1) > 15$$

$$(3-1)(n-1) > 15$$

$$2(n-1) > 15$$

$$2n-2 > 15$$

$$n > 8,5$$

Berdasarkan penghitungan dengan rumus federer jumlah sampel pada setiap kelompok perlakuan penelitian ini adalah 9 ekor, sehingga penelitian ini membutuhkan total sampel sebanyak 27 ekor tikus putih.

3.5 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.5.1 Instrumen Penelitian

1. Alat pemberian perlakuan

Kandang tikus, timbangan, sonde oral, gelas ukur, spuit 1cc, dan pengaduk.

2. Alat untuk pemeriksaan histopatologi

Mikroskop cahaya, kaca objek dan kaca penutup, dan kamera digital.

3.5.2 Bahan Penelitian

CCl_4 0,1 ml/100grBB, larutan HCl, larutan eosin, formalin 10%, pewarna hematoxilin, larutan lithium bikarbonat, dan alcohol. Daun jambu biji 20 dan 25 lembar, makanan dan minuman hewan coba, dan aquades

3.6 Cara Penelitian

3.6.1 Pengajuan *Ethical Clearance*

Ethical clearance diajukan ke komisi Bioetik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang

3.6.2 Pembuatan Air Rebusan Daun Jambu Biji

1. Merebus 600 ml air dengan suhu 80°C lalu ditambahkan 20 lembar daun jambu biji untuk dosis pertama.
2. Merebus 600 ml air dengan suhu 80°C lalu ditambahkan 25 lembar daun jambu biji untuk dosis kedua.

3. Setelah suhu mendidih dan air tersisa sebanyak 200ml pisahkan daun dosis pertama dan kedua dalam dua wadah yang berbeda.
4. Rebusan diulang setiap harinya dengan cara yang sama selama penelitian berlangsung dan dilakukan uji total flavonoid pada air rebusan daun jambu biji.
5. Pemberian air rebusan kepada hewan coba dilakukan secara peroral melalui sonde dengan dosis 1ml diberikan 2 kali sehari pada pagi dan sore hari secara berkala pada 7 hari.

3.6.3 Induksi Pada Tikus

Hewan uji yang akan digunakan ialah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) pemberian CCl_4 diberikan secara intraperitoneal. Jumlah sampel sebanyak 27 ekor dan dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan. Berikut pembagiannya:

1. Kelompok I : kelompok yang diinduksi CCl_4 dengan menggunakan dosis 0,1 ml/100gBB
2. Kelompok II : kelompok yang diinduksi CCl_4 dengan menggunakan dosis 0,1 ml / 100gBB + dosis satu
3. Kelompok III : kelompok yang diinduksi CCl_4 dengan menggunakan dosis 0,1 ml / 100gBB + dosis dua

3.6.4 Pemeriksaan Histopatologi Hepar

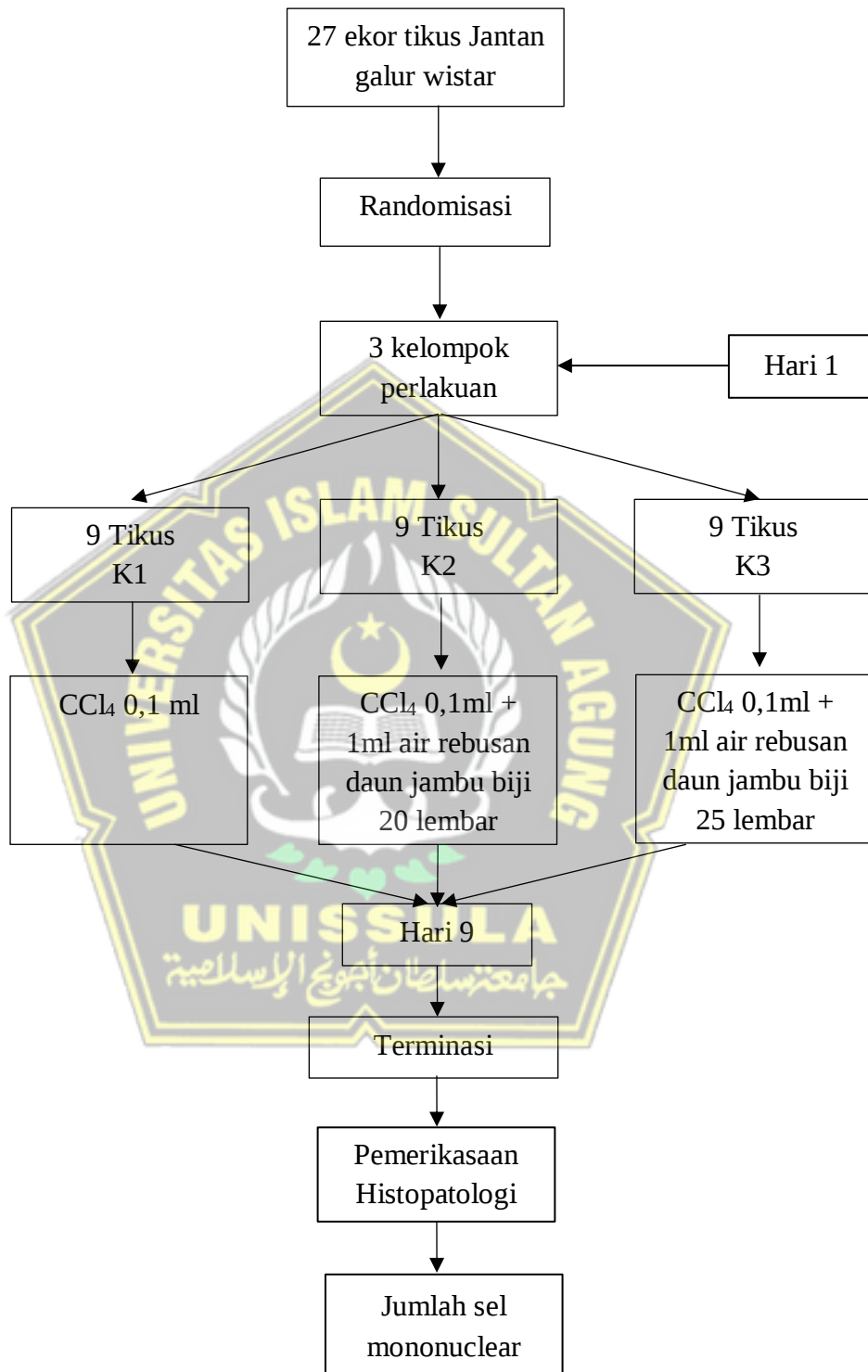
Jumlah sel mononuclear dapat dinilai melalui pemeriksaan mikroskopis dengan perbesaran 400x pada preparat hepar dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE).

3.6.5 Pembuatan dan Pengecatan Preparat

Pembuatan preparat memiliki tahapan seperti berikut :

1. Hepar yang sudah diambil sekitar 1mm disimpan di dalam formalin 10% dan dikeringkan
2. Preparat hepar yang sudah kering, dimasukkan pewarnaan hematoxylin dan didiamkan dalam waktu 2-5 menit, lalu kemudian akan dicuci menggunakan air mengalir
3. Preparat yang sudah terwarnai oleh hematoxylin diberi larutan HCl dan dicuci menggunakan air mengalir
4. Preparat dimasukkan kedalam larutan lithium bikarbonat selama 1-3 menit dan akan dicuci dengan cara menggunakan air yang mengalir
5. Preparat akan diberi larutan eosin selama 1-3 menit dan dibilas menggunakan alcohol
6. Kemudian di tutup dengan kaca penutup dan diberi label
7. Preparat diamati di mikroskop cahaya dengan pembesaran 400X untuk melihat jumlah sel mononuklear dalam tiap lapang pandang.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

3.8 Tempat dan Waktu

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang pada bulan Juli hingga Agustus 2024. Laboratorium tersebut dipilih dikarenakan mempunyai sarana dan prasarana yang memadai untuk dilakukan penelitian ini. Pembuatan preparat hepar dilakukan di Laboratorium Biologi sedangkan pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi.

3.9 Analisis Data

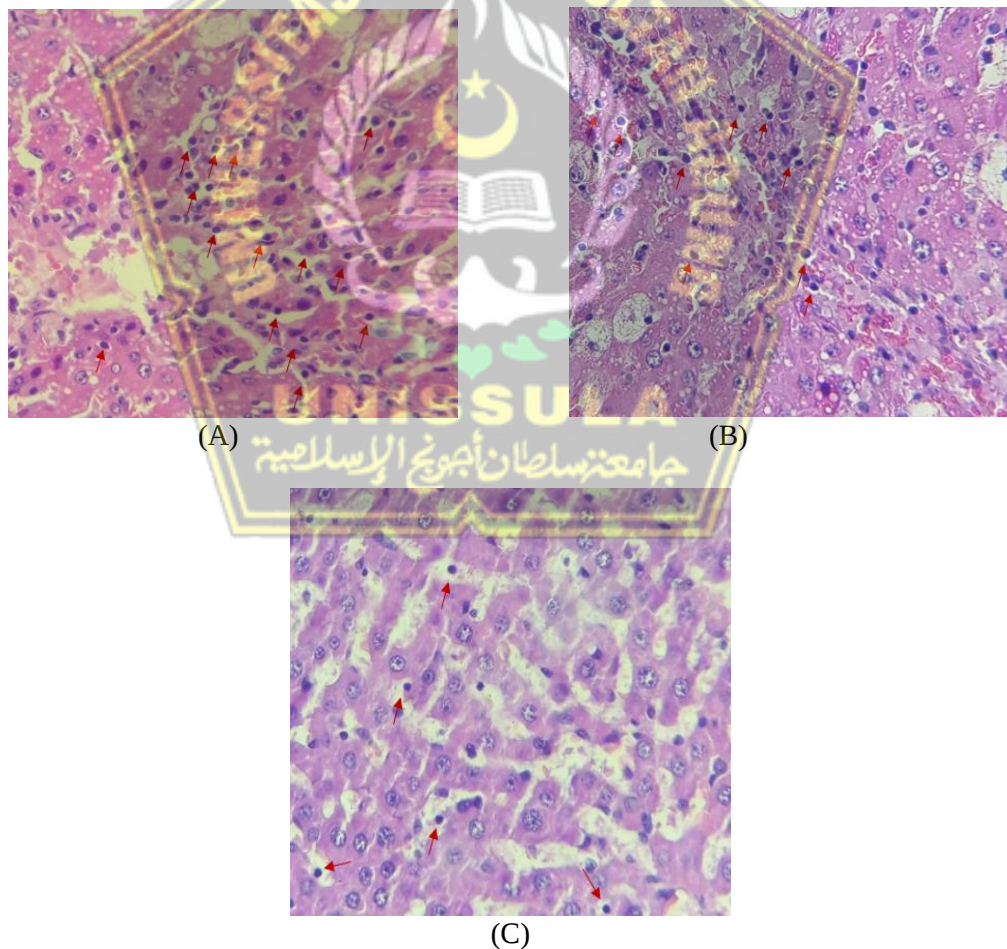
Data akan diolah dengan menggunakan program *computer Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Adapun data yang telah diperoleh dilakukan pengukuran uji normalitas dan homogenitas sampel, karena jumlah sampel <30 dan skala data dari kedua variabel adalah rasio, maka uji normalitas akan dilakukan dengan cara menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan cara menggunakan *Levene Test* yang akan dilanjutkan uji parametrik yaitu Uji Kruskal Wallis dan Uji post Hoc Mann-Whitney, adapun ketika hasil dari uji statistic tersebut didapatkan hasil ($p < 0,05$) maka hipotesis kerja akan diterima dan hipotesis nihil akan ditolak. Sementara itu, jika hasil dari uji ($p > 0,05$) maka hipotesis kerja akan ditolak dan hipotesis nihil akan diterima.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Hewan coba dibagi menjadi tiga kelompok. Diantaranya adalah kelompok 1 (K1) yaitu kelompok kontrol, kelompok 2 (K2) dengan air rebusan daun jambu biji (20 lembar), dan kelompok 3 (K3) diberi rebusan daun jambu biji (25 lembar). Setiap kelompok terdiri atas 9 ekor tikus.



Gambar 4.1 Sel Mononuklear Organ Hepar

(A) K1; (B) K2; (C) K3; Panah merah : Sel mononuklear

Pewarnaan Hematoksilin & Eosin (HE);
Perbesaran 400x.

4.1.1 Deskripsi dan Distribusi Data

Tabel 4. 1 Hasil deskripsi dan distribusi data

Kelompok	<i>Mean</i> $\pm$ <i>SD</i>	<i>p-value</i>	
		Uji normalitas	Uji homogenitas
K1	17,62 $\pm$ 1,541	.398	.018
K2	7,97 $\pm$ 0,811	.025	
K3	4,97 $\pm$ 0,783	.017	

Merujuk pada Tabel 4.1, diketahui bahwa secara rata rata jumlah sel mononuclear pada 3 kelompok K1, K2, dan K3 dengan hasil rerata jumlah sel mononuklear paling tinggi terdapat pada K1 dan paling rendah K3. Hasil dari uji homogenitas telah memperlihatkan nilai secara signifikansi *Based on Mean* yaitu 0,018 ($p < 0,05$), adapun hal ini berarti varian data dari ketiga kelompok tidak homogen. Maka, untuk menguji pengaruh pemberian air rebusan daun jambu biji pada sel mononuclear perlu dilakukan uji Kruskal Wallis.

4.1.2 Uji Kruskal-Wallis

Tabel 4.2 Uji Kruskal Wallis

Variabel	Kelompok			<i>p-value</i>
	K1	K2	K3	
Jumlah sel mononuklear	0,000	0,000	0,000	0,000

Hasil pengujian Kruskal-Wallis menunjukkan nilai Asymp. Sig. yaitu 0,000, adapun nilai ini lebih kecil dari $p < 0,05$. Sehingga hal ini telah mengemukakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan di antara jumlah sel mononuklear pada ketiga kelompok perlakuan, yang

berarti air rebusan daun jambu biji memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah sel mononuklear pada organ hepar. Untuk mengetahui perbedaan jumlah sel mononuclear antar setiap kelompok dilakukan dengan uji post hoc Mann Whitney.

4.1.3 Uji Mann-Whitney

Tabel 4.3 Hasil Uji Mann-Whitney

<i>Kelompok</i>	<i>Perbedaan rerata</i>	<i>Nilai Sig.</i>
K1 & K2	9,65	.000
K1 & K3	12,5	.000
K2 & K3	3	.000

Berdasarkan output uji mann-whitney menunjukkan bahwa nilai signifikansi antara semua pasangan kelompok (K1+K2, K1+K3, dan K2+K3) ialah 0,000. Sehingga hal ini berarti signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Sebagaimana dasar pengambilan keputusan Uji Mann-Whitney di atas maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh rebusan daun jambu biji terhadap jumlah sel.

4.2 Pembahasan

Hasil dari penelitian ini telah menunjukkan bahwa rebusan daun jambu biji memiliki pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel mononuklear pada organ hepar. Pada kelompok CC14 0,1 ml, yang tidak diberi perlakuan rebusan daun jambu biji, jumlah sel mononuklear cenderung lebih banyak. Perbaikan sel hepar akibat dari kerusakan yang terjadi akibat paparan CC14 yang dikenal sebagai senyawa hepatotoksik, menyebabkan stres oksidatif pada sel-sel hati, yang mengakibatkan peradangan dan

peningkatan jumlah sel mononuklear sebagai respon imun tubuh untuk memperbaiki kerusakan (Sayed *et al.*, 2020)

Hasil pengamatan pada perlakuan air rebusan daun jambu biji yang diberikan dalam kurun waktu 7 hari pada kelompok yang diberi perlakuan rebusan daun jambu biji sejumlah 20 lembar dan 25 lembar, memiliki jumlah sel mononuklear lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok CC14 0,1 ml. Menurut penelitian sebelumnya, mengenai air rebusan daun jambu biji terhadap histopatologi hepar mencit yang diinduksi aloksan, dosis efektif untuk memperbaiki sel hepar yang mengalami kerusakan adalah 20 dan 25 lembar daun (Prasetyo, 2023). Adapun hasil dari uji yang telah dilakukan (Fachriyah *et al.*, 2023) telah mengemukakan bahwa air rebusan daun jambu biji mempunyai mengandung saponin, tannin, kuinon, steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Maka, kesimpulan yang dapat ditarik yaitu air rebusan daun jambu biji mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat. Flavonoid, mempunyai sifat antioksidan yang memiliki kemampuan di dalam menangkal radikal bebas dan menghambat terjadinya peradangan, sehingga jumlah sel mononuklear sebagai indikator peradangan juga menurun.

Kemudian, hasil dari penelitian (Pasaribu *et al.*, 2023) telah menemukan bahwa ekstrak daun jambu biji mampu menurunkan aktivitas radikal bebas dan meredakan peradangan pada hewan uji yang mengalami kerusakan hati akibat stres oksidatif. Dalam penelitian tersebut, senyawa flavonoid dalam daun jambu biji terbukti efektif dalam menghambat reaksi oksidasi lipid, yang merupakan salah satu penyebab utama kerusakan hati.

Hasil ini relevan dengan temuan penelitian ini, di mana penurunan jumlah sel mononuklear pada kelompok perlakuan rebusan daun jambu biji diduga kuat berkaitan dengan aktivitas antioksidan flavonoid yang mengurangi stres oksidatif dan menghambat kerusakan pada hepar. Namun, perbedaan pada penelitian ini jika dilakukan perbandingan dengan penelitian terdahulu ialah metode pemberian senyawa aktif. Penelitian sebelumnya banyak menggunakan ekstrak etanol atau metanol dari daun jambu biji, sedangkan penelitian ini menggunakan air rebusan daun jambu biji, yang lebih sederhana dan relevan untuk pengobatan tradisional. Hasil penelitian ini memperluas wawasan tentang aplikasi praktis daun jambu biji, karena menunjukkan bahwa air rebusan sederhana juga memiliki efektivitas yang signifikan dalam mengurangi peradangan dan kerusakan hati.

Penelitian ini mempunyai beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan yaitu, belum dilakukan pemeriksaan marker inflamasi seperti TNF- α dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Merujuk pada hasil dari penelitian mengenai pengaruh rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) terhadap jumlah sel mononuklear organ hepar, dapat disimpulkan bahwa :

1. Pemberian air rebusan daun jambu biji (*Psidium guajava*) berpengaruh terhadap jumlah sel mononuklear pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diinduksi fibrosis menggunakan CCl₄.
2. Terdapat perbedaan jumlah sel mononuklear pada gambaran histopatologi hepar tikus jantan galur wistar antara kelompok penelitian.

5.2 Saran

Merujuk pada keterbatasan yang telah diidentifikasi pada penelitian ini, adapun berikut beberapa saran yang dapat diberikan:

1. Melakukan pemeriksaan marker inflamasi lain seperti TNF- α dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) untuk menilai inflamasi akibat induksi CCl₄.

DAFTAR PUSTAKA

- Altamirano-Barrera, A., Barranco-Fragoso, B., & Méndez-Sánchez, N. (2017). Management strategies for liver fibrosis. *Annals of Hepatology*, 16(1), 48–56. <https://doi.org/10.5604/16652681.1226814>
- Anand, V., Manikandan, Kumar, V., Kumar, S., Pushpa, & Hedina, A. (2016). Phytopharmacological overview of *Psidium guajava* Linn. *Pharmacognosy Journal*, 8(4), 314–320. <https://doi.org/10.5530/pj.2016.4.3>
- Aziz-Seible, R. S., & Casey, C. A. (2011). Fibronectin: Functional character and role in alcoholic liver disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 17(20), 2482. <https://doi.org/10.3748/WJG.V17.I20.2482>
- Boll, M., D Weber, L. W., Becker, E., & Stampfl, A. (2001). Mechanism of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity. Hepatocellular Damage by Reactive Carbon Tetrachloride Metabolites. In Z. *Naturforsch.* 56c (Vol. 6). www.znaturforsch.com
- Chang, S. N., Kim, S. H., Dey, D. K., Park, S. M., Nasif, O., Bajpai, V. K., Kang, S. C., Lee, J. T., & Park, J. G. (2021). 5-O-Demethylnobiletin Alleviates CCl₄-Induced Acute Liver Injury by Equilibrating ROS-Mediated Apoptosis and Autophagy Induction. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1083. <https://doi.org/10.3390/IJMS22031083>
- Damjanov, Ivan. (2009). *Pathology secrets*. Mosby/Elsevier.
- Fachriyah, E., Br Tampubolon, L. S., Ngadiwiyana, N., Ismiyarto, I., & Sarjono, P. R. (2023). Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Fenolik Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Penelitian Saintek*, 1(1). <https://doi.org/10.21831/jps.v1i1.58488>
- Fadhilah, A., Susanti, S., & Gultom, T. (2018). *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya Universitas Negeri Medan*. 12.
- Fahrudin, F., Ningsih, S., Wardhana, H. I., Haribowo, D. R., & Hamida, F. (2020). Efektivitas Dosis Karbon Tetraklorida (Ccl₄) Terhadap Tikus (*Rattus Norvegicus* L.) Sebagai Hewan Model Fibrosis Hati. *Berita Biologi*, 19(3B), 411–422. https://biologyjournal.brin.go.id/index.php/berita_biologi/article/view/3961

- Fujii, T., Fuchs, B. C., Yamada, S., Lauwers, G. Y., Kulu, Y., Goodwin, J. M., Lanuti, M., & Tanabe, K. K. (2010). *Mouse model of carbon tetrachloride induced liver fibrosis: Histopathological changes and expression of CD133 and epidermal growth factor*. <http://www.biomedcentral.com/1471-230X/10/79>
- Gajender, Mazumder, A., Sharma, A., & Azad, M. A. K. (2023). A Comprehensive Review of the Pharmacological Importance of Dietary Flavonoids as Hepatoprotective Agents. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2023). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2023/4139117>
- Lee, Y. S., & Seki, E. (2023). In Vivo and In Vitro Models to Study Liver Fibrosis: Mechanisms and Limitations. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 16(3), 355–367. <https://doi.org/10.1016/J.JCMGH.2023.05.010>
- Marra, F., Aleffi, S., Galastri, S., & Provenzano, A. (2009). Mononuclear cells in liver fibrosis. *Seminars in Immunopathology* 2009 31:3, 31(3), 345–358. <https://doi.org/10.1007/S00281-009-0169-0>
- Maulina, M. (2018). *Zat Zat Yang Mempengaruhi Histopatologi Hepar*.
- Mescher, A. L., & Junqueira, L. C. U. (2016). *Junqueira's basic histology : text and atlas* (16th ed.).
- Osman, H. A., Nafady-Hego, H., Nasif, K. A., Ahmed, H. A., Mahmoud, E. A. R., Abass, N. M., Rayan, A., Mahmoud, M. A., & Nafady, A. (2023). Peripheral Mononuclear Cells Surface Markers Evaluation in Different Stages of Hepatocellular Carcinoma; in a Trial for Early and Accurate Diagnosis in Patients with Post-Hepatitis Liver Cirrhosis and Unremarkable Raised AFP. *International Journal of General Medicine*, 16, 1047. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S404914>
- Parola, M., & Pinzani, M. (2019). Liver fibrosis: Pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues. *Molecular Aspects of Medicine*, 65, 37–55. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2018.09.002>
- Pasaribu, K., Nugroho, R. A., & Hastuti, S. (2023). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Jambu Biji (Psidium guajava) pada Proses Transportasi terhadap Hemoglobin dan Kelulusan Hidup Benih Ikan Mas (Cyprinus carpio). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 7(1), 28–38.

- Pellicoro, A., Ramachandran, P., Iredale, J. P., & Fallowfield, J. A. (2014). Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nature Reviews Immunology* 2014 14:3, 14(3), 181–194. <https://doi.org/10.1038/nri3623>
- Popović, D., Kocić, G., Katić, V., Zarubica, A., Veličković, L. J., Ničković, V. P., Jović, A., Veljković, A., Petrović, V., Rakić, V., Jović, Z., Ulrih, N. P., Sokolović, D., Stojanović, M., Stanković, M., Radenković, G., Nikolić, G. R., Lukač, A., Milosavljević, A., & Sokolović, D. (2019). Anthocyanins protect hepatocytes against CCL4-induced acute liver injury in rats by inhibiting pro-inflammatory mediators, polyamine catabolism, lipocalin-2, and excessive proliferation of kupffer cells. *Antioxidants*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/antiox8100451>
- PRASETYO;, D. P. D. (2023). *Pengaruh Air Rebusan Daun Jambu Biji Putih(Psidium Guajava Var. Pyrifera L.) Terhadap Histopatologi Hepar Mencit (Mus Musculus) Yang Diinduksi Aloksan.* //repository.poltekkes-smg.ac.id/?p=show_detail&id=35466
- Roitt, I., & Delves, P. (1998). *Encyclopedia of Immunology* (2nd ed.).
- Sayed, E. A., Badr, G., Hassan, K. A. H., Waly, H., Ozdemir, B., Mahmoud, M. H., & Alamery, S. (2020). Induction of liver fibrosis by CCl4 mediates pathological alterations in the spleen and lymph nodes: The potential therapeutic role of propolis. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(2), 1272. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2020.11.068>
- Scholten, D., Trebicka, J., Liedtke, C., & Weiskirchen, R. (2015). The carbon tetrachloride model in mice. *Laboratory Animals*, 49, 4–11. <https://doi.org/10.1177/0023677215571192>
- Sherry, D., McCulloch, A., Liang, Q., Reimann, S., & Newman, P. A. (2018). Current sources of carbon tetrachloride (CCl4) in our atmosphere. *Environmental Research Letters*, 13(2). <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa9c87>
- Su, S.-B., Dong, S., Chen, Q.-L., Song, Y.-N., Sun, Y., Wei, B., Li, X.-Y., Hu, Y.-Y., & Liu, P. (2016). *Mechanisms of CCl 4-induced liver fibrosis with combined transcriptomic and proteomic analysis.*

- Syam, J. (2011). *Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan*.
<https://www.researchgate.net/publication/298788693>
- Tacke, F., & Zimmermann, H. W. (2014). *Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis*.
- Tortora, G. J., & College, V. (2017). *Principles of ANATOMY & PHYSIOLOGY 15th Edition BRYAN DERRICKSON*.
- Treml, J., & Šmejkal, K. (2016). Flavonoids as Potent Scavengers of Hydroxyl Radicals. In *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (Vol. 15, Issue 4, pp. 720–738). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12204>
- Triantafyllou, E., Woollard, K. J., McPhail, M. J. W., Antoniadou, C. G., & Possamai, L. A. (2018). The Role of Monocytes and Macrophages in Acute and Acute-on-Chronic Liver Failure. *Frontiers in Immunology*, 9, 427904. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.02948/BIBTEX>
- Vijayakumar, K., Arumugam, V. A., Ramasamy, M., Natesan, M., Palanisamy, S., Thajuddin, N. B., Balasubramanian, B., & Meyyazhagan, A. (2020). Hepatoprotective effects of Psidium guajava on mitochondrial enzymes and inflammatory markers in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 46(12), 2041–2050. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1843474>
- Washabau, R. J., Meyer, H. P., Rothuizen, J., Lidbury, J. A., Steiner, J. M., Richter, K., Johnson, S. E., Szatmari, V., Pastor, J., Planellas, M., Greco, D. S., Rondeau, M. P., Willard, M. D., Fossum, T., & Watson, P. (2012). Liver. *Canine and Feline Gastroenterology*, 849–957. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3661-6.00061-4>
- Yang, H., Han, J. W., Lee, J. J., Lee, A., Cho, S. W., Rho, P. R., Kang, M. W., Jang, J. W., Jung, E. S., Choi, J. Y., Sung, P. S., & Bae, S. H. (2023). Intrahepatic infiltration of activated CD8⁺ T cells and mononuclear phagocyte is associated with idiosyncratic drug-induced liver injury. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1138112>

- Young, B., O'Dwod, G., & Woodford, P. (2014). *Histologi; Barbara Young, Geraldine O'Dowd, Phillip Woodford - Wheater's Functional Histology_ A Text and Colour Atlas* (2013, Churchill Livingstone). 6th.
- Younossi, Z. M., Golabi, P., Paik, J. M., Henry, A., Van Dongen, C., & Henry, L. (2023). The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. *Hepatology*, 77(4), 1335–1347. <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000004>
- Zhang, L., Liu, C., Yin, L., Huang, C., & Fan, S. (2023). Mangiferin relieves CCl4-induced liver fibrosis in mice. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30582-3>

