

ARTIKEL PENELITIAN

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) TERHADAP
HEPAR MENCIT (*Mus musculus*) GALUR DDY PADA UJI TOKSISITAS AKUT
(*THE EFFECT OF BAY LEAF (*Syzygium polyanthum*) ETHANOL EXTRACT ON THE
LIVER OF MICE (*Mus musculus*) DDY STRAIGHT IN ACUTE TOXICITY TEST*)**

Ris Kristiana¹, Astri Pradini², Milani Indah Kusumaningsih³

¹Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi,
Jawa Barat, Indonesia

²Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa
Barat, Indonesia

³Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi,
Jawa Barat, Indonesia

Email Korespondensi: kristiana1980@gmail.com

ABSTRAK

Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat herbal di Indonesia. Senyawa aktif pada daun salam salah satunya berperan sebagai antioksidan. Obat merupakan zat yang dapat berpotensi menyebabkan hepatotoksik. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam (EEDS) termasuk kategori praktis tidak toksik, tetapi belum ada keterangan pengaruhnya terhadap histopatologi hepar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan gambaran histopatologi hepar mencit pada kelompok pemberian akut EEDS dosis bertingkat. Penelitian ini merupakan studi observasional terhadap histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) putih jantan dan betina galur DDY. Sediaan berjumlah 55 buah, terdiri dari 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K), kelompok yang diberikan EEDS dengan dosis 1250 mg/kgbb (P1), 2500 mg/kgbb (P2), dan 5000 mg/kgbb (P3). Organ hepar dibuat menjadi sediaan mikroskopis dengan pewarnaan H&E, lalu dilakukan penilaian histopatologi hepar menggunakan skoring Manja Roenigk. Hasil penelitian berdasarkan uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata skor perubahan hepatosit ($p < 0,05$). Perbedaan signifikan pada mencit jantan K-P2 dan K-P3 ($p = 0,032$), sedangkan pada mencit betina K-P1, K-P2, dan K-P3 ($p = 0,002$). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi perubahan histopatologi hepar pada mencit jantan dan betina berupa peradangan, degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, dan nekrosis pada mencit jantan dengan pemberian EEDS dosis 2500 dan 5000 mg/kgbb, sedangkan pada mencit betina sudah terjadi perubahan histopatologi hepar pada pemberian EEDS dosis 1250 mg/kgbb. Pemberian akut EEDS dosis bertingkat memiliki efek toksik akibat aktivitas prooksidan dan peningkatan stres oksidatif pada pemberian antioksidan dosis tinggi.

Kata kunci: daun salam, hepatotoksisitas, histopatologi hepar, skoring Manja Roenigk, stres oksidatif

ABSTRACT

Bay leaf (Syzygium polyanthum (Wight) Walp) is one of the plants used as herbal medicine in Indonesia. The active compounds in bay leaves acts as an antioxidant. Medicine can potentially cause hepatotoxicity. Previous studies concluded that the ethanol extract of bay leaf (EEDS) was categorized as practically non-toxic, but there was no information regarding its effect on liver histopathology. This study aims to determine the histopathological changes in the mice's liver that occur in the acute dose stratified EEDS group. This research is an observational study on the liver histopathology of white male and female DDY mice. There were 55 preparations divided to 4 groups, its negative control group (K), the group with dose of EEDS 1250 mg/kgbb (P1), 2500 mg/kgbw (P2), and 5000 mg/kgbw (P3). The liver organs were made into microscopic preparations and observed using the Manja Roenigk scoring. The results based on the statistical test showed that there was a significant difference at mean score of hepatocyte's changes ($p < 0.05$). There was a significant difference in male mice K-P2 and K-P3 ($p = 0.032$), whereas in female mice K-P1, K-P2, and K-P3 ($p = 0.002$). The results of this study indicated that there were histopathological changes include inflammation, parenchymal degeneration, hydropic degeneration, and necrosis on male mice's liver by EEDS at doses of 2500 mg/kg and 5000 mg/kg, while on female mice there had been changes in hepatic histopathology when consumption EEDS at dose of 1250 mg/kgbw. The acute consumption of stratified doses EEDS has a toxic effect due to prooxidant activity and increased oxidative stress on high dosing.

Keywords: bay leaves, hepatotoxicity, liver histopathology, Manja Roenigk scoring, oxidative stress

PENDAHULUAN

Hepar merupakan organ terbesar dengan unit fungsional berupa lobulus hepar yang tersusun atas hepatosit, pembuluh darah, sistem aliran limfe, sistem biliaris, dan ruang-ruang limfe 3 interlobularis dengan fungsi yang saling terkait satu sama lain, juga paling sering mengalami kelainan karena fungsinya yang terganggu secara bersamaan. Salah satu fungsinya ialah sebagai tempat metabolisme dari hormon serta zat-zat kimia asing, seperti obat-obatan.¹ Kerusakan hepar dapat dipicu oleh paparan

obat karena berpotensi menyebabkan hepatotoksisitas.²

Gambaran mikroskopis yang terjadi pada hepar akibat paparan dari zat-zat yang masuk ke dalam tubuh sering ditandai dengan adanya peradangan pada jaringan hepar dan perubahan struktur hepatosit.³ Derajat peradangan dapat dibedakan menjadi kategori ringan dan berat, sedangkan perubahan gambaran hepatosit dapat ditentukan dengan skoring tingkat kerusakan hepatosit dengan metode skoring Manja Roenigk.⁴⁻⁶ Gambaran kerusakan hepar ini memiliki korelasi dengan banyaknya cedera sel yang terjadi,

mekanisme pertahanan detoksifikasi dan karena adanya stres oksidatif.^{5,7}

Dalam penelitian ini digunakan bahan uji berupa ekstrak etanol daun salam (EEDS). Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan tanaman obat yang dikenal oleh masyarakat Indonesia karena berperan dalam kesehatan terkait kandungan yang dimilikinya. Penggunaannya dalam bidang kesehatan digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, seperti diabetes melitus (DM), hipertensi, gastritis, diare, penyakit kulit, dan infeksi. Daun salam mengandung karbohidrat, alkaloid, flavonoid, fenolik, tannin, terpenoid, steroid, dan saponin. Selain itu, daun salam mengandung riboflavin (vitamin B2), niacin (vitamin B3) dan *ascorbic acid* (vitamin C), vitamin C ini juga memiliki fungsi sebagai antioksidan.¹¹⁻¹³ Flavonoid merupakan senyawa utama yang terkandung pada daun salam. Flavonoid memiliki bagian bernama *quercetin*. *Quercetin* ini memiliki peran sebagai antioksidan yang eksogenus.¹³⁻¹⁶ Zat ini utamanya mengalami metabolisme di hepar dan usus halus.^{14,18} Di dalam tubuh, reaksi oksidasi yang merusak berupa adanya *reactive oxygen spesies* (ROS) dapat dibantu ditangani oleh antioksidan.^{3,19} Apabila keseimbangan antara produksi ROS serta pembuangannya terganggu, maka akan terjadi stres

oksidatif yang menyebabkan perubahan gambaran histopatologi hepar. Pada penggunaan yang berlebihan, flavonoid-*quercetin* dapat berpotensi menyebabkan terjadinya aktivitas prooksidan dan malah dapat menimbulkan stres oksidatif.¹⁹ Penggunaan daun salam memiliki efek samping sistemik berupa hipoglikemik sehingga terdapat kemungkinan bisa mempengaruhi dari gambaran histopatologi sel yang terpapar.¹⁷

METODE PENELITIAN

Pembuatan Preparat

Pembuatan preparat terbagi menjadi beberapa proses, yaitu fiksasi dengan menggunakan Neutral buffer formalin 10%, *trimming* yaitu proses pemotongan jaringan dengan cara memilih bagian yang mewakili sehingga menjadi bagian kecil supaya bisa masuk ke dalam kaset jaringan, dehidrasi dengan menggunakan *tissue processor* yang dilakukan untuk mengurangi kadar air dalam jaringan dengan cara merendam dalam alkohol 70-96%, toluen, xilol dan parafin cair. Kemudian proses *clearing* (penjernihan), pengeblokan dengan cara menyimpan jaringan dalam kaset yang diisi dengan parafin cair, *cutting* (pemotongan) blok parafin menggunakan mikrotom, pengecatan dengan menggunakan zat warna Hematoxylin-Eosin, dan terakhir dilakukan penutupan preparat dengan

cover glass yang ditempel menggunakan entelan.

Pembacaan Preparat

Pembacaan preparat dilakukan di bawah mikroskop cahaya. Dengan pembesaran 100x untuk melihat daerah sekitar vena porta dan vena sentralis dan 400x dalam 5 lapang pandang untuk melihat hepatosit. Pada saat pembacaan preparat, metode yang digunakan ialah metode semikuantitatif *eyeballing* dengan menggunakan indra penglihatan peneliti untuk melihat sel dan diperkirakan daerah yang terdapat perubahan histopatologi.

Cara Pengukuran

Derajat peradangan hepar ditentukan dengan pengamatan tanda peradangan di daerah sekitar vena porta hingga vena sentralis. Apabila terdapat infiltrat sel radang yang terlokalisasi di sekitar vena porta hepar mencit menunjukkan radang hepar ringan, sedangkan apabila merata dari vena porta hingga vena sentralis menunjukkan radang hepar berat.^{4,6} Pada pengamatan perubahan histopatologi sel hepar ditentukan menggunakan modifikasi Skoring Histopatologi Manja Roenigk, yaitu dari 20 sel yang diamati pada setiap lapang pandang, jumlah sel normal akan dikalikan 1, jumlah sel dengan gambaran

degenerasi parenkimatosia dikalikan 2, sel dengan degenerasi hidropik/pelemakan dikalikan 3, sel dengan nekrosis dikalikan 4. Kemudian seluruh skor dijumlahkan hingga 5 lapang pandang dan dijadikan sebagai nilai kerusakan hepar yang terjadi. Data tersebut dijumlahkan dan diakumulasikan untuk menghitung persentase kerusakan hepatosit.

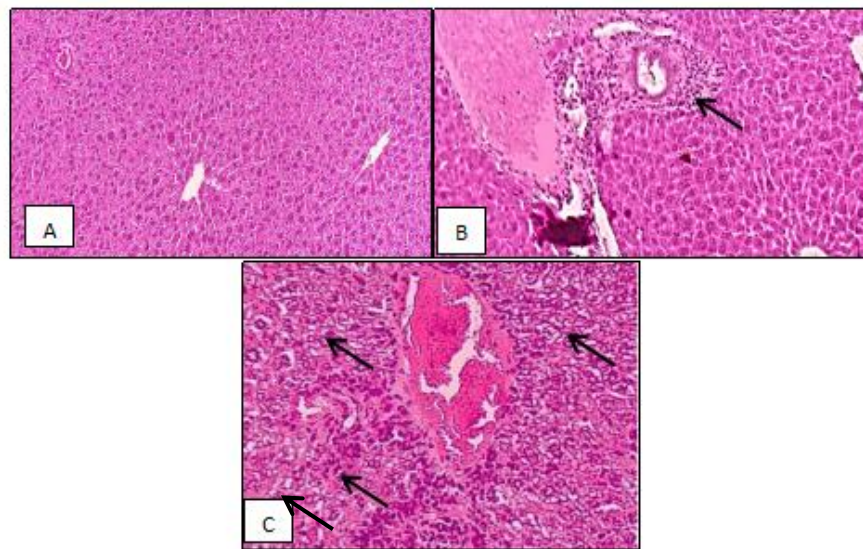
Analisis Statistik

Data dari penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan SPSS. Gambaran histopatologi hepar berdasarkan modifikasi Skoring Histopatologi Manja Roenigk pada mencit jantan diuji dengan Uji Kruskal Wallis dan *Post-Hoc* Mann Whitney, sedangkan pada mencit betina diuji dengan Uji One-Way ANOVA dan *Post-Hoc* Tuckey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Derajat Peradangan

Proses peradangan terjadi saat adanya paparan suatu infeksi atau zat yang masuk dan berpotensi menyebabkan kerusakan pada hepatosit.^{4,6,21} Gambaran yang didapatkan baik pada mencit jantan dan betina ialah ditemukannya tanda peradangan dengan derajat ringan dan derajat berat yang ditunjukkan seperti pada Gambar 1.



Gambar 1 Gambaran peradangan hepar mencit, H&E pembesaran 100x. (A) Tidak ada peradangan; (B) Peradangan ringan (panah hitam : infiltrasi sel radang di sekitar porta); (C) peradangan berat (panah hitam : infiltrasi sel radang di sekitar porta meluas hingga stroma dan di antara sel hepatosit).

Secara histopatologi, setiap kelompok perlakuan pada sediaan hepar mencit jantan dan betina ditemukan gambaran peradangan seperti pada Gambar 1. Data hasil pengelompokan derajat peradangan untuk masing-masing

perlakuan pada mencit jantan disajikan pada Tabel 1. Pada mencit jantan terjadi peradangan ringan paling banyak pada kelompok kontrol, sedangkan peradangan berat paling banyak terjadi pada kelompok P2.

Tabel 1 Data derajat peradangan hepar mencit jantan

Kelompok Perlakuan	Derajat Peradangan Hepar		Total
	Ringan	Berat	
Kontrol	7	0	7
P1 (EEDS dosis 1250 mg/kgbb)	4	3	7
P2 (EEDS dosis 2500 mg/kgbb)	3	4	7
P3 (EEDS dosis 5000 mg/kgbb)	3	3	6
Total			27

Data hasil pengelompokan derajat peradangan untuk masing-masing perlakuan mencit betina disajikan pada

Tabel 2. Pada mencit betina terjadi peradangan ringan paling banyak

pada kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok P3. peradangan berat paling banyak terjadi

Tabel 2 Data derajat peradangan hepar mencit betina

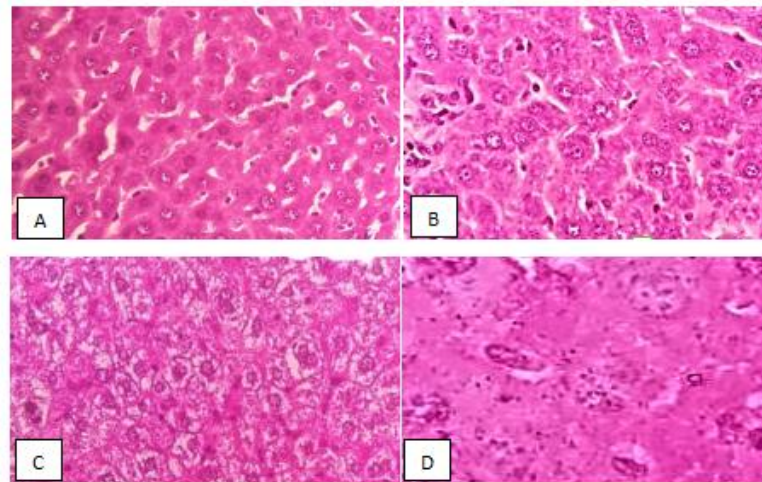
Kelompok Perlakuan	Derajat Peradangan Hepar		Total
	Ringan	Berat	
Kontrol	5	2	7
P1 (EEDS dosis 1250 mg/kgbb)	4	3	7
P2 (EEDS dosis 2500 mg/kgbb)	3	4	7
P3 (EEDS dosis 5000 mg/kgbb)	2	5	7
Total			28

Gambaran Perubahan Histopatologi

Perubahan yang terjadi dapat bersifat *reversible* berupa adanya degenerasi bengkak keruh/parenkimatosa, degenerasi hidropik, dan pelemakan, atau yang bersifat *irreversible* berupa gambaran sel yang nekrosis.³ Hepatosit yang normal seharusnya memiliki struktur sel-sel yang membentuk lempeng tersusun secara radier dari vena sentralis. Hepatosit memiliki bentuk polihedral dengan sitoplasma yang asidofilik, bulat, nukleus sel besar, dan vesikuler dengan nukleolus yang menonjol.²²⁻²⁴ Adanya perubahan histopatologi hepar pada penelitian ini memberikan gambaran seperti pada Gambar 2.

Degenerasi parenkimatosa ditandai dengan adanya sel-sel yang membengkak serta sitoplasma yang bergranula sehingga jaringan tampak keruh.^{3,25,26} Pada degenerasi hidropik, selnya memiliki ciri-ciri berupa sel tampak membesar,

sitoplasmanya pucat, dan mengalami vakuolisasi yang terjadi karena peningkatan pemasukan air ke dalam sel dan kemudian air memasuki vakuola-vakuola tersebut.^{3,27} Secara umum, zat-zat yang bersifat toksik dapat menyebabkan degenerasi hidropik karena adanya gangguan pompa natrium-kalium pada membran sel akibat peroksidasi lipid membran sehingga terjadi kondisi hipernatremia di dalam sel yang menyebabkan masuknya air ke dalam sel dan terjadi degenerasi hidropik.^{3,26} Bentuk gambaran lainnya ialah nekrosis. Mekanisme nekrosis dapat terjadi ketika jaringan/sel mengalami hipoksia atau masuknya zat asing yang bersifat toksik, maka mitokondria akan mengalami luka sehingga mengakibatkan lisosom pecah, mengeluarkan enzim hidrolitik dan melarutkan sel.^{3,26,28}



Gambar 2 Gambaran histopatologi hepatosit mencit, H&E pembesaran 400x. (A) Normal; (B) degenerasi parenkimatos/bengkak keruh; (C) degenerasi hidropik; (D) nekrosis.

Hasil gambaran sediaan histopatologi hepar mencit menunjukkan bahwa pada gambaran mikroskopis, kelompok kontrol negatif memiliki gambaran yang lebih baik dibanding kelompok P1, P2, dan P3 dilihat dari gambaran perubahan sel yang ditemukan dan derajat peradangan yang terjadi. Pada kelompok kontrol masih ditemukan lebih

banyak sel normal dan peradangan ringan dibandingkan dengan kelompok P1, P2, dan P3.

Skoring Perubahan Histopatologi Hepar Mencit Jantan

Total hasil skoring yang telah dilakukan pada setiap perlakuan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Analisis deskriptif skoring manja roenigk pada hepar mencit jantan

No	Kelompok	<i>Descriptive Statistics</i>			
		Minimum	Maksimum	Mean	Std dev
1.	Kontrol	105	184	135,86	26.972
2.	EEDS 1250 mg/kgbb	115	163	147,43	15.704
3.	EEDS 2500 mg/kgbb	133	176	163,29	15.283
4.	EEDS 5000 mg/kgbb	146	185	167,50	14.460

Data hasil skoring Manja Roenigk menunjukkan bahwa gambaran perubahan hepatosit terjadi paling sedikit pada kelompok kontrol (K) dengan skor rerata 136 dan paling banyak terjadi pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) dosis 5000 mg/kgbb (P3) dengan skor rerata 168.

Pada hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data skoring Manja Roenigk mencit jantan tidak semuanya

memiliki distribusi normal karena nilai $p < 0,05$ sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji non-parametrik, yaitu *Kruskal Wallis Test*, hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p = 0,032$ atau nilai $p < 0,05$.

Hasil uji *Post-Hoc Mann Whitney* pada Tabel 5 menunjukkan bahwa kerusakan mulai terjadi pada pemberian EEDS dosis 2500 mg/kgbb dan dosis 5000 mg/kgbb.

Tabel 4 Hasil uji kruskal wallis skoring manja roenigk mencit jantan

Perlakuan	Mean Skoring <i>Manja Roenigk</i> Hepar \pm SD	Uji Kruskal Wallis	Nilai p^*
Kontrol	135.86 \pm 26.972	8.789	0,032
EDS 1250mg/kgbb	147.43 \pm 15.704		
EDS 2500mg/kgbb	163.29 \pm 15.283		
EDS 5000mg/kgbb	167.50 \pm 14.460		

Keterangan *) $p < 0,05$ (Terdapat perbedaan yang bermakna)

Tabel 5 Uji post-hoc mann whitney skoring manja roenigk hepar mencit

Kelompok	Kontrol	EEDS 1250 mg/kgbb	EEDS 2500 mg/kgbb	EEDS 5000 mg/kgbb
Kontrol		0,276	*0,047	*0,045
EEDS 1250mg/kgbb	0,276		*0,047	*0,038
EEDS 2500mg/kgbb	*0,047	*0,047		0,568
EEDS 5000mg/kgbb	*0,045	*0,038	0,568	

Keterangan: *Hasil uji *Post-Hoc Mann Whitney*: $p < 0,05$ (terdapat perbedaan bermakna)

Skoring Perubahan Histopatologi Hepar Mencit Betina

Total hasil skoring yang telah dihitung pada setiap kelompok perlakuan

dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6 Analisis deskriptif skoring manja roenigk pada hepar mencit betina

No.	Kelompok	<i>Descriptive Statistics</i>			
		Minimum	Maksimum	Mean	Std dev
1.	Kontrol	124	200	171.29	25.124
2.	EEDS 1250 mg/kgbb	166	227	203.43	21.946
3.	EEDS 2500 mg/kgbb	196	230	214.29	12.893
4.	EEDS 5000 mg/kgbb	190	235	209.14	15.225

Data hasil skoring Manja Roenigk menunjukkan bahwa gambaran perubahan hepatosit terjadi paling sedikit pada kelompok kontrol (K) dengan skor rerata 171 dan paling banyak terjadi pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) dosis 2500 mg/kgbb (P2) dengan skor rerata

214. Pada hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data skoring Manja Roenigk mencit memiliki distribusi normal ($p>0,05$) sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji parametrik, yaitu One-Way ANOVA. Hasil uji One-Way ANOVA dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 Hasil Uji ANOVA skoring manja roenigk hepar mencit betina

Perlakuan	Mean Skoring <i>Manja Roenigk</i> ± SD	F(Anova)	Nilai p^*
Kontrol	171.29 ± 25.124	6.938	0,002
EEDS 1250mg/kgbb	203.43 ± 21.946		
EEDS 2500mg/kgbb	214.29 ± 12.893		
EEDS 5000mg/kgbb	209.14 ± 15.225		

Keterangan: *) $p<0,05$ (terdapat perbedaan yang bermakna)

Hasil uji One-Way ANOVA pada Tabel 7 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikansi $p=0,002$ atau nilai $p<0,05$. Uji statistik dilanjutkan dengan menggunakan

Post-Hoc Tukey HSD untuk menguji kelompok yang memiliki perbedaan bermakna tersebut dan hasil dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8 Uji *post-hoc tukey* skoring manja roenigk hepar mencit betina

Kelompok	Kontrol	EEDS 1250 mg/kgbb	EEDS 2500 mg/kgbb	EEDS 5000 mg/kgbb
Kontrol		*0,024	*0,002	*0,007
EEDS 1250mg/kgbb	*0,024		0,725	0,946
EEDS 2500mg/kgbb	*0,002	0,725		0,959
EEDS 5000mg/kgbb	*0,007	0,946	0,959	

Keterangan: *Hasil uji *Post-Hoc Tukey*: $p < 0,05$ (terdapat perbedaan bermakna)

Ini menunjukkan bahwa secara statistik, perbedaan yang bermakna terjadi pada semua kelompok perlakuan pemberian EEDS. Maka berdasarkan hasil statistik tersebut, pemberian EEDS dosis 1250 mg/kgbb pada mencit betina sudah menimbulkan kerusakan pada hepatosit. Hasil ini berbeda dengan pemberian EEDS pada mencit jantan yang baru mulai menimbulkan kerusakan hepar pada pemberian EEDS dosis 2500 mg/kgbb. Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun salam (EEDS) sebagai bahan yang diberikan terhadap hewan uji. Senyawa aktif dalam EEDS yang berperan ialah flavonoid dan zat-zat fenolik lain yang memiliki peran sebagai antioksidan eksogenus.^{29,30}

Kerusakan jaringan hepar dapat terjadi ketika senyawa flavonoid ini dimetabolisme di hepar melalui reaksi fase I dan II. Enzim *cytochrome* P-450 sangat berperan penting pada fase I. Obat-obatan dapat menghambat kerja enzim *cytochrome* P-450. Kerusakan jaringan

hepar dapat terjadi akibat dari proses oksidasi yang tidak maksimal pada tahap I dan menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme pada fase II sehingga terjadi akumulasi metabolit obat.³¹ Mekanisme ini juga terjadi karena semakin banyaknya antioksidan yang ditambahkan, maka dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada keadaan jumlah dan posisi gugus hidroksil bebas dalam molekul mengalami perubahan, juga dapat mempengaruhi fungsi molekul sebagai antioksidan menjadi prooksidan. Prooksidan dapat terbentuk pada konsentrasi tertentu atau pada pemberian antioksidan dosis tinggi, maka akan terbentuk radikal hidroksil yang menyebabkan ketidakseimbangan produksi dan detoksifikasi dari ROS. *Reactive oxygen species* yang semakin meningkat menimbulkan stres oksidatif dan memicu perubahan histopatologi sel hepar.^{3,18}

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat gambaran

histopatologi berupa degenerasi parenkimatos/bengkak keruh, degenerasi hidropik, dan nekrosis pada mencit mencit jantan dan mencit betina setelah pemberian EEDS dosis 1250 mg/kgbb, dosis 2500 mg/kgbb, dan 5000 mg/kgbb.

KONFLIK KEPENTINGAN

Dengan ini kami menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam artikel ilmiah yang kami tulis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada profesional yang telah membantu penelitian dan penyusunan naskah, yaitu Staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hall JE. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Keduabelas. Ermita Isfandiary, Dr. dr. MA, Dkk., editors. Singapura: Elsevier Ltd; 2014. 907 p.
2. Björnsson ES. Hepatotoxicity by drugs: The most common implicated agents. *Int J Mol Sci*. 2016;17(2).
3. Aster KA. Buku Ajar Patologi Robbins. 9th ed. I Made Nasar SC, editor. Elsevier Saunders; 2014. 2–20, 595–604, 616 p.
4. Crespo R, Garner MM, Hopkins SG, Shah DH. Outbreak of *Listeria monocytogenes* in an urban poultry flock. 2013.
5. Sutrisna Eman, Fitriani Annisa A, Setiawati, Salim Islimsyaf A, Maskoen Ani M, Sujatno Muchtan SHS. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Sendok (*Plantago Major* L) Pada Tikus Model Hepatotoksik : Tinjauan Anatomi Dan Histopatologi. *Pharmacy*. 2013;10 No. 01:1–14.
6. Insani A, Suri S, Berata I. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih Yang Diberikan Deksametason Dan Vitamin E. *Indones Med Veterinus*. 2015;4(3):228–37.
7. Jarrar BM, Taib NT. Histological and histochemical alterations in the liver induced by lead chronic toxicity. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2012;19(2):203–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.12.005>
8. Krishna M. Microscopic Anatomy of the Liver Functional Units : Acinus and Lobule Space of Disse The space of Disse is a compartment between endothelial. 2013;2(March):4–7.
9. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara in vivo. BPOM [Internet]. 2014;39(1):1–24. Available

- from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2015.03.025>
10. Ismail A, Wan Ahmad WAN. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp: A potential phytomedicine. *Pharmacogn J*. 2019;11(2):429–38.
 11. Dewijanti ID, Mangunwardoyo W, Artanti N, Hanafi M. Bioactivities of Salam leaf (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp). *AIP Conf Proc*. 2019;2168(November).
 12. Kusuma IW, Kuspradini H, Arung ET, Aryani F, Min YH, Kim JS, et al. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea*. *JAMS J Acupunct Meridian Stud* [Internet]. 2011;4(1):75–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2005-2901\(11\)60010-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2005-2901(11)60010-1)
 13. Birt DF, Jeffery E. Nutrient Information of Flavonoids. *Adv Nutr*. 2013;(1):576–7.
 14. Kumar S, AbhayK. Review Article Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview Shashank. *Pandey Dep*. 2013;58(4):145–8.
 15. Hartanti L, Yonas SMK, Mustamu JJ, Wijaya S, Setiawan HK, Soegianto L. Influence of extraction methods of bay leaves (*Syzygium polyanthum*) on antioxidant and HMG-CoA Reductase inhibitory activity. *Heliyon* [Internet]. 2019;5(4):e01485. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01485>
 16. Hidayati MD, Ersam T, Shimizu K, Fatmawati S. Antioxidant activity of *Syzygium polynthum* extracts. *Indones J Chem*. 2017;17(1):49–53.
 17. Taylor P. Dietary Flavonoid Quercetin and Associated Health Benefits — An Overview This article was downloaded by : [Jan , Arif Tasleem] Access details : Access Details : [subscription number 922821804] Dietary Flavonoid Quercetin and Associated Health Benefits. 2012.
 18. Rahal A, Kumar A, Singh V, Yadav B, Tiwari R, Chakraborty S, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
 19. Permana BY. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Mencit (*Mus musculus*) Galur DDY. Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. Jenderal Achmad Yani; 2019.
 20. VP E. Atlas Histologi diFiore dengan Korelasi Fungsional. 12th ed. Suyono YJ, Mulyadi CK, Rughwani NR, Nitihardjo KC RR, editor. EGC; 2018. 367–376 p.

21. Kenhub. Liver histology_ Structure, cells and characteristics _ . 2020.
22. Frank H. Netter M. Atlas of Human Anatomy by Netter. 3rd ed. Elsevier Inc.;2014. 278–282 p.
23. Krishna M. Microscopic Anatomy of the Liver Functional Units : Acinus and Lobule Space of Disse The space of Disse is a compartment between endothelial. 2013;2(March):4–7.
24. Chiang J. Liver Physiology : Metabolism and Detoxification [Internet]. Pathobiology of Human Disease. Elsevier Inc.; 2017. 1770–1782 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.04202-7>
25. Karmakar RN. Forensic Medicine And Toxicology. Oral, Practical & M.C.Q. In: 1st ed. Kolkata: Academic Publishers Kolkata; 2006. p. 320.
26. Sari, Windi Novita. Pengaruh Pemberian Butylated Hydroxytoluene (2,6- Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol) Per Oral Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Tikus Wistar. 2018. Vol 7. Jurnal Kedokteran Diponegoro. JKD, Vol. 7, No. 2, Mei 2018 : 1344-1357.
27. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. 12th ed. Frans Dany D, editor. McGraw-Hill Education; 2012. 281–290 p.
28. Al-Nuaimi AAHD. Extracts of Plants used as Traditional Medicines have Toxic Effect on the Liver and Kidney. MOJ Anat Physiol. 2018;5(2):32–41.
29. Dewijanti ID, Mangunwardoyo W, Artanti N, Hanafi M. Bioactivities of Salam leaf (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp). AIP Conf Proc. 2019;2168(November).
30. McDonnell AM, Dang CH. Basic Review of the Cytochrome P450 System. ADPRO. 2013.
31. Simanjuntak, K. Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan. Volume 23 Nomor 3. April 2012. Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Jakarta: Bina Widya. Hal: 135-140.

