



EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH GANDARIA (*Bouea macrophylla* Griffith.) TERHADAP GAMBARAN MORFOHISTOLOGI LIMPA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus* L.) YANG DIINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA (CCl₄)

Ahmad Baihaqi Ananda El Rawy¹, Husnarika Febriani², Nurlian Augustin Ningrum³

^{1,2,3}Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

*Corresponding author: (ahmadnanda212@gmail.com)

ABSTRACT

Carbon tetrachloride (CCl₄) is a volatile liquid that can cause hepatotoxicity in metabolism because it produces reactive oxygen species (ROS), which can trigger inflammation and cell dysfunction. Gandaria fruit (*Bouea macrophylla* Griffith) is known to contain a number of antioxidant compounds that function as free radical scavengers. This study aims to determine the effect of administering ethanol extract of gandaria fruit (*Bouea macrophylla* Griffith.) on the morphology and histology of the spleen of white rats (*Rattus norvegicus* L.) induced by carbon tetrachloride (CCl₄). This study used RAL using 25 rats divided into 5 groups. Negative controls were only given food and drink, and positive controls were given CCl₄ 1 mL/kgBW. Treatment P1, P2, and P3 were given CCl₄ 1 mL/kgBW + gandaria fruit extract with doses of P1 (100 mg/kgBW), P2 (150 mg/kgBW), and P3 (200 mg/kgBW). CCl₄ administration was carried out every 3 days for 30 days, and gandaria fruit extract was administered daily from day 8 to day 30. The stages in this study include qualitative phytochemical screening tests, antioxidant activity tests using the DPPH method, macroscopic analysis of the morphological condition of the spleen organ, and histological examination of the spleen organ using the paraffination and HE staining methods. Data analysis used the one-way ANOVA test and continued with Duncan's advanced test. The results showed that administration of gandaria fruit ethanol extract did not affect the morphology of the spleen organ of white rats induced by carbon tetrachloride (CCl₄), including the edge shape, color, surface, texture, weight, length, and width. However, induction of carbon tetrachloride at a dose of 1 mL/kgBW can damage the histological condition of the spleen tissue, including bleeding and necrosis and widening the diameter of the white pulp, the diameter of the germinal center, and the marginal zone. Administration of gandaria fruit ethanol extract in the P3 treatment at a dose of 200 mg/kgBW was the most effective dose in repairing spleen organ tissue.

Keywords: Spleen, *Bouea macrophylla* Griffith, Carbon Tetrachloride (CCl₄)

PENDAHULUAN

Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan cairan yang mudah menguap yang dapat menyebabkan hepatotoksitas melalui kerusakan oksidatif dalam metabolisme. Cairan ini adalah bahan kimia yang diproduksi secara masif serta digunakan sebagai insektisida dan cairan pembersih (Meaden et al., 2020). Karbon tetraklorida (CCl₄) mudah memasuki tubuh melalui inhalasi, konsumsi oral, atau penyerapan melalui kulit. Setelah memasuki tubuh, senyawa ini akan tersebar ke berbagai organ tubuh, dengan konsentrasi tertinggi ditemukan di hati, otak, ginjal, otot, jaringan lemak, dan darah. Karbon tetraklorida (CCl₄) masuk kedalam tubuh

dimetabolisme di hati oleh enzim sitokrom P450, kemudian membentuk radikal bebas triklorometil (CCl₃) dengan cepat berikatan dengan oksigen menjadi triklorometil peroksil (CCl₃O₂) menyebar didalam darah dan akan sampai pada limpa (EL Sayed et al., 2019). Polutan dan xenobiotik kimia yang dikeluarkan oleh Karbon tetraklorida (CCl₄) dapat membahayakan limpa dengan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga dapat memicu inflamasi dan disfungsi sel. Kelebihan ROS di dalam tubuh yang tidak diimbangi dengan peningkatan antioksidan dapat menyebabkan sel menjadi lebih rentan terhadap stres oksidatif (Retnaningsih et al., 2013).

Limpa merupakan organ dengan fungsi utama dalam memfiltrasi darah dan mengatur sistem imun di dalam tubuh. Hal itu membuat limpa menjadi salah satu organ pertahanan bagi tubuh terhadap serangan dari luar tubuh (Hidayati et al., 2018). Kerusakan yang terjadi pada limpa diantaranya splenomegali atau pembesaran yang tidak normal pada limpa, hipersplenisme atau overaktifnya aktivitas limpa yang dapat menghancurkan terlalu banyak sel darah (Hernandez, 2002), ruptur limpa atau pecahnya limpa yang diakibatkan hantaman benda keras atau perbesaran limpa dan splenitis atau peradangan pada limpa yang dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, virus maupun paparan zat toxic yang masuk kedalam tubuh. Salah satu zat toxic yang dapat merusak organ limpa adalah Karbon tetraklorida (CCl_4) (Abu-Serie et al., 2021). Oleh karena itu, untuk mencegah terjadinya efek tersebut dibutuhkan antioksidan yang berasal dari alam yang dapat menghambat efek radikal bebas hasil metabolisme Karbon tetraklorida (CCl_4) (Octaviany et al., 2017).

Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.) dikenal sebagai buah dengan sebutan plum mango di tingkat internasional. Tanaman ini banyak dikonsumsi oleh masyarakat, khususnya di negara Malaysia dan Indonesia sendiri. Tanaman ini memiliki berbagai manfaat, baik pada buah, daun, maupun bijinya. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa buah gandaria mengandung sejumlah senyawa antioksidan yang tinggi, seperti flavonoid, polifenol, dan vitamin C (Sukalingam, 2018). Senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi farmakologis sebagai antioksidan (Murthy & Bapat, 2020), anti mikroba, anti kanker (Dechsupa et al., 2019), anti hiperglikemik, serta anti penuaan (Cheong et al., 2018). Selain itu, mengkonsumsi buah gandaria juga dapat meningkatkan konsentrasi β -karoten di dalam darah. β -karoten merupakan pigmen alami yang berfungsi sebagai prekursor vitamin A dan sebagai antioksidan bagi tubuh (Fu'adah et al., 2022).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi kandungan dan khasiat ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.) dalam melawan radikal bebas pada organ limpa tikus putih yang dihasilkan karbon tetraklorida (CCl_4).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mikroskop trinokuler, kandang tikus, blender, *rotary evaporator*, *embedding station*, hot plate, sonde lambung (tikus), alat suntik, timbangan analitik, beaker glass, batang pengaduk, *water bath*, set alat bedah, oven, mikrotom, *tissue processing automatic* dan spektrofotometer *uv vis*.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.), karbon tetraklorida (merck), Etanol 70%, akuades, pelet standar tikus, ketamin, *Neutral Buffered Formalin* 10%, NaCL fisiologis 0,9%, xylol, toluol, alkohol bertenar (70%, 80%, 90%, 100%) minyak zaitun, slide preparat, paraffin cair, Pewarna HE.

Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima macam kelompok perlakuan dengan lima kali pengulangan:

Kontrol (-)	:	Minum dan Pakan + dosis Minyak zaitun tanpa perlakuan
Kontrol (+)	:	Minum dan Pakan + dosis induksi CCl_4 (1 mL/kgBB i.p) yang dilarutkan pada minyak zaitun dengan ratio 1:3 dan diinjeksi setiap 3 hari sekali selama 30 hari (pagi hari) <ul style="list-style-type: none"> - Minum dan Pakan standar + Dosis induksi CCl_4 (1 mL/kgBB i.p) yang dilarutkan pada minyak zaitun dengan ratio 1:3 dan diinjeksi setiap 3 hari
Kelompok P1	:	<ul style="list-style-type: none"> - sekali selama 30 hari (pagi hari) - Hari 8-30 diberi ekstrak buah gandaria dengan dosis (100 mg/kgBB p.o) (sore hari) - Minum dan Pakan standar + Dosis induksi CCl_4 (1 mL/kgBB i.p) yang dilarutkan pada minyak zaitun dengan ratio 1:3 dan diinjeksi setiap 3 hari
Kelompok P2	:	<ul style="list-style-type: none"> - sekali selama 30 hari (pagi hari) - Hari 8-30 diberi ekstrak buah gandaria dengan dosis (150 mg/kgBB p.o)(sore hari) - Minum dan Pakan standar + Dosis induksi CCl_4 (1 mL/kgBB i.p) yang dilarutkan pada minyak zaitun dengan ratio 1:3 dan diinjeksi setiap 3 hari
Kelompok P3	:	<ul style="list-style-type: none"> - sekali selama 30 hari (pagi hari) - Hari 8-30 diberi ekstrak buah gandaria dengan dosis (150 mg/kgBB p.o)(sore hari) - Minum dan Pakan standar + Dosis induksi CCl_4 (1 mL/kgBB i.p) yang dilarutkan pada minyak zaitun dengan ratio 1:3 dan diinjeksi setiap 3 hari

Prosedur Penelitian

Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.)

Buah gandaria segar sebanyak 5 kg dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk dan diayak untuk mendapatkan serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi yang di jelaskan pada penelitian (Yeo et al., 2014) dengan pelarut etanol 70 % dengan perbandingan 1:10 (1000 gram serbuk simplisia: 10 liter etanol 70%) selama 48 jam. Selanjutnya, rendaman tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring dan kemudian dipekatan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak pekatnya (Yeo et al., 2014).

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dalam penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) strain wistar, berumur 3 bulan, dengan berat badan 140-240 gram, sebanyak 25 ekor lalu dibagi menjadi lima kelompok dan dimasukkan kedalam kandang berukuran 40 cm x 60 cm. Tikus di aklimatisasi selama 7 hari untuk menghilangkan efek stres pada tikus yang berdampak pada metabolisme tikus dan dapat mengganggu penelitian karena mereka berada di lingkungan baru.

Penginduksian dan Penetapan Dosis CCl₄

Penginduksian CCl₄ dilakukan secara intraperitoneal pada bagian abdomen dengan dosis 1 mL/kgBB berdasarkan berat badan total hewan uji (Normasiwi & Setiorini, 2020). Untuk pelarut yang digunakan untuk melarutkan CCl₄ adalah minyak zaitun dengan perbandingan CCl₄ dan minyak zaitun 1:3 setiap 3 hari sekali di pagi hari pada kontrol positif, P1, P2, dan P3 (Padauleng & Nurhidayati, 2016). Penginduksian dilakukan pada pagi hari setiap 3 hari sekali dimulai dari hari ke-1 hingga hari ke-30.

Penginduksian Ekstrak Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.)

Pemberian ekstrak buah gandaria terhadap hewan uji secara oral dengan dosis berbeda setiap kelompok perlakuan. Kelompok P1, P2, P3 masing-masing mendapat dosis 100, 150 dan 200 mg/kgBB. Pemberian ekstrak dilakukan pasca pemberian CCl₄ pada sore hari dimulai pada hari ke-8 penelitian dan dilakukan secara berturut-turut hingga hari ke-30.

Pembedahan dan Pengamatan Morfologi Limpa

Tikus dianestesi dengan inhalasi overdosis eter hingga pingsan. Setelah itu, dilakukan dislokasi leher kemudian di bedah dengan memotong perut tikus dari bagian bawah abdomen menuju rongga dada. Kemudian diambil organ limpa lalu diamati perubahan makroskopik meliputi bentuk tepi, warna, permukaan,

tekstur, berat, panjang dan lebar limpa pada setiap perlakuan. Setelah itu organ limpa dibersihkan dengan larutan NaCl fisiologis. Kemudian, organ dipotong secara sagital dan dimasukkan ke dalam botol vial yang berisi larutan NBF 10% untuk disimpan.

Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi limpa dilakukan melalui metode parafin dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE), prinsip pewarnaan Hematoksilin-Eosin adalah inti yang bersifat asam akan menarik zat/larutan yang bersifat basa sehingga akan berwarna biru. Sitoplasma bersifat basa dan akan menarik zat/larutan yang bersifat asam sehingga berwarna merah.

Pemeriksaan Histopatologi

Pengamatan preparat histologi limpa menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40X pada setiap 5 lapangan pandang untuk lesi perdarahan (Amira et al., 2023) dan perbesaran 100X pada setiap 5 lapangan pandang untuk nekrosis (Hidayati et al., 2018). Kemudian limpa diperiksa menggunakan metode skoring berdasarkan adanya lesi perdarahan dan nekrosis folikel. Untuk hasil pemeriksaan perdarahan diberi skor yakni 0 (Normal/tidak ada perdarahan), 1 (Perdarahan ringan/fokal), 2 (Perdarahan sedang /multifokal), 3 (perdarahan berat/difusa). Dan untuk hasil pemeriksaan nekrosis yakni 0 (Tidak ada nekrosis), 1 (Nekrosis ringan/fokal), 2 (Nekrosis sedang /multifokal), 3 (Nekrosis berat/difusa).

Pengamatan histomorfometri menggunakan mikroskop dengan perbesaran 10X pada setiap lapangan pandang untuk mengukur diameter pulpa putih, diameter germinal center dan lebar zona marginalis. Pengukuran histomorfometri dilakukan menggunakan software *Image J* yang telah dikalibrasi menggunakan slide *micrometer*, setelah itu dihitung rata-rata diameter dan lebar yang didapat.

Analisis Data

Hasil skoring histopatologi dan pengukuran histomorfometri dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*). Uji lanjut Duncan dilakukan jika ditemukan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$), untuk membandingkan perlakuan antar kelompok kontrol. Hasil analisis kemudian disajikan secara deskriptif dan kuantitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan Morfologi Limpa

Hasil nilai rata-rata berat, panjang dan lebar limpa menunjukkan bahwa kelompok K+ memiliki nilai rata-rata berat, panjang dan lebar limpa yang paling besar diantara kelompok lainnya sedangkan pada kelompok K- memiliki nilai rata-rata berat dan panjang terkecil dan nilai rata-rata lebar yang sama dengan P1. Pada

kelompok P1 memiliki nilai rata-rata berat dan panjang yang paling kecil dibanding P2 dan P3 namun nilai rata-rata lebarnya paling besar dibanding P2 dan P3. Kelompok P2 memiliki nilai rata-rata berat dan lebar terkecil namun dengan nilai rata-rata panjang terbesar dibanding P1 dan P3. Sedangkan kelompok P3 memiliki nilai rata-rata berat terbesar dibanding P1 dan P2 namun dengan rata-rata panjang lebih kecil dari P2 tapi lebih besar dari P1 dan rata-rata lebar lebih besar dari P2 tapi lebih kecil dari P1. Berdasarkan Hasil uji *one way* ANOVA menunjukkan tidak terdapat perbedaan taraf signifikan ($p>0,05$) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah gandaria dan karbon tetraklorida (CCl_4) tidak berpengaruh nyata terhadap berat, panjang dan lebar organ limpa pada semua kelompok perlakuan.

Tabel 1. Hasil pengamatan berat, panjang dan lebar organ limpa

Kelompok	Berat Limpa (g)	Panjang Limpa (cm)	Lebar Limpa (cm)
K-	0,83±0,24 ^a	3,8±0,25 ^a	1,2±0,10 ^{ab}
K+	1,13±0,21 ^b	3,7±0,30 ^a	1,3±0,16 ^b
P1	0,93±0,16 ^{ab}	3,8±0,17 ^a	1,2±0,12 ^{ab}
P2	0,92±0,22 ^{ab}	3,9±0,08 ^a	1,1±0,04 ^a
P3	1,09±0,14 ^{ab}	3,9±0,14 ^a	1,1±0,19 ^a
<i>P</i> =value	0,140	0,706	0,067

Keterangan : SD : Standar Deviasi, K- (minum dan pakan + minyak zaitun), K+ (CCl_4 1mL/kgBB), P1 (CCl_4 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 100 mg/kgBB), P2 (CCl_4 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 150 mg/kgBB), P3 (CCl_4 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 200 mg/kgBB). ^aNotasi angka yang diikuti huruf yang sama di dalam kolom menunjukkan tidak terdapat perbedaan secara signifikan($P>0,05$).

Limpa termasuk kedalam kelompok organ limfoid sekunder dimana tingkat kesensitifitas organ limpa terhadap zat toksik masih kurang baik dibandingkan organ tubuh lainnya seperti hati dan ginjal. Penyerapan zat toksik seperti karbon tetraklorida (CCl_4) tidak berlangsung baik didalam limpa hal ini terjadi karena limpa merupakan salah satu organ yang tidak mempunyai saluran sehingga akses penyerapan toksisitas hanya berlangsung didalam pembuluh darah. disamping itu, biotransformasi CCl_4 tidak langsung terjadi didalam limpa. Biotransformasi adalah proses perubahan bahan kimia menjadi bahan kimia lain melalui reaksi kimia yang dilakukan dengan bantuan enzim dan sel mikroba (Amira et al., 2023). hampir semua aktivitas biotransformasi terjadi pada organ hati dan sebagian terjadi di ginjal oleh karena itu organ hati dan ginjal lebih rentan dan berpotensi lebih tinggi terpapar pengaruh zat toksik dibandingkan limpa (Kurniawidjaja et al., 2021).

Pengaruh Ekstrak Buah Gandaria terhadap Gambaran Histologis Limpa

Pengamatan histologi jaringan limpa meliputi dua pemeriksaan yaitu dengan metode scoring untuk melihat lesi perdarahan dan nekrosis. Hasil pengamatan histologi dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan tabel 2 terjadi kenaikan skor lesi perdarahan pada kelompok kontrol positif ($2,80\pm0,09$) yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif ($1,52\pm0,12$) dengan nilai *P*-value = 0.000 yang berarti ($P<0,05$). Hal ini menunjukkan efek toksik dari karbon tetraklorida (CCl_4) berkontribusi signifikan terhadap gambaran lesi perdarahan jaringan limpa tikus. Pada kontrol negatif ($1,52\pm0,12$) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1 ($2,44\pm0,13$), P2 ($2,07\pm0,07$), P3 ($1,75\pm0,48$) dengan nilai *P*-value = 0.000 yang berarti ($P<0,05$). ini menunjukkan pemberian ekstrak buah gandaria bertingkat memberikan adanya efek antiinflamasi pada kelompok perlakuan. Perbaikan maksimal terjadi pada kelompok P3 dengan dosis 200 mg/kgBB.

Tabel 2. Skor lesi perdarahan Limpa Tikus Putih

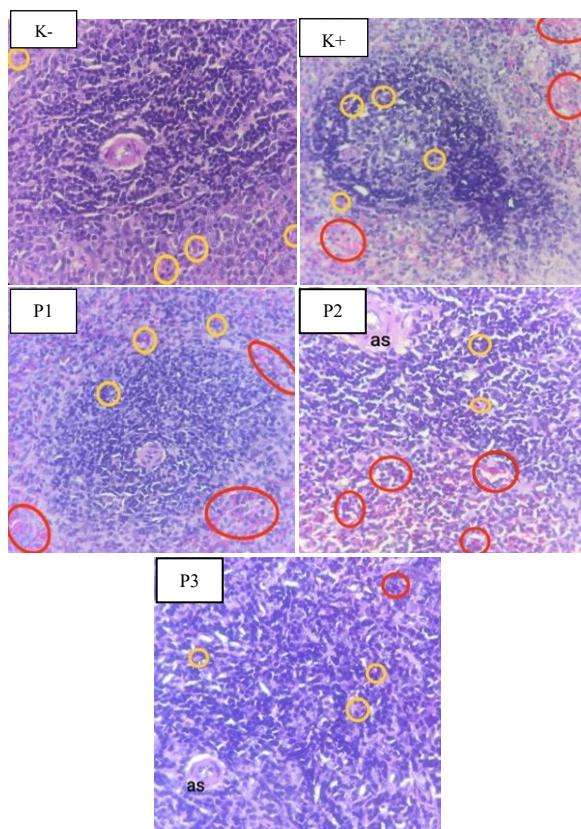
Kelompok	Skor Lesi Perdarahan ± SD	Skor Nekrosis ± SD	<i>P</i> = value
K-	1,52±0,12 ^a	1,15±0,11 ^a	
K+	2,80±0,09 ^e	2,19±0,07 ^e	
P1	2,44±0,13 ^d	1,87±0,07 ^d	0.000
P2	2,07±0,07 ^c	1,50±0,09 ^c	
P3	1,75±0,48 ^b	1,29±0,14 ^b	

Keterangan : SD : Standar Deviasi, K- (minum dan pakan + minyak zaitun), K+ (CCl_4 1mL/kgBB), P1 (CCl_4 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 100 mg/kgBB), P2 (CCl_4 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 150 mg/kgBB), P3 (CCl_4 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 200 mg/kgBB). ^aNotasi angka yang diikuti huruf yang sama di dalam kolom menunjukkan perbedaan secara signifikan($P<0,05$).

Hal yang sama terjadi pada kenaikan skor nekrosis pada kelompok kontrol positif ($2,19\pm0,07$) yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif ($1,15\pm0,11$) dengan nilai *P*-value = 0.000 yang berarti ($P<0,05$). Hal ini menunjukkan efek toksik dari karbon tetraklorida (CCl_4) berkontribusi signifikan terhadap gambaran nekrosis pada jaringan limpa tikus. Pada kontrol negatif ($1,15\pm0,11$) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan P1 ($1,87\pm0,07$), P2 ($1,50\pm0,09$), P3 ($1,29\pm0,14$) dengan nilai *P*-value = 0.000 yang berarti ($P<0,05$). hal ini menunjukkan pemberian ekstrak buah gandaria bertingkat memberikan adanya efek perbaikan sel pada kelompok perlakuan. Perbaikan maksimal terjadi pada kelompok P3 dengan dosis 200 mg/kgBB.

Perdarahan pada jaringan limfoid dapat terjadi akibat adanya paparan bahan kimia ataupun zat beracun tertentu (Ward *et al.*, 1999) termasuk diantaranya yaitu karbon tetraklorida (CCl_4). Perdarahan pada jaringan limpa dapat terjadi karena konversi molekul CCl_4 menjadi radikal bebas CCl_3 oleh enzim sitokrom P-450. Radikal bebas CCl_3 akan bereaksi dengan oksigen melepaskan radikal triklorometil peroksida (CCl_3O_2). Pembentukan radikal bebas ini kemudian berakibat menimbulkan stress oksidatif yang memicu peroksidasi lipid pada membran sel endotel pembuluh darah limpa sehingga meningkatkan permeabilitas dan kerapuhan dinding kapiler, kondisi ini menyebabkan ekstravasasi eritrosit yang tampak sebagai lesi perdarahan pada sel limpa (EL Sayed *et al.*, 2019). Pendarahan pada jaringan limfoid termasuk kedalam salah satu bentuk respon imun yang dilakukan oleh limpa (Suardana, 2017).

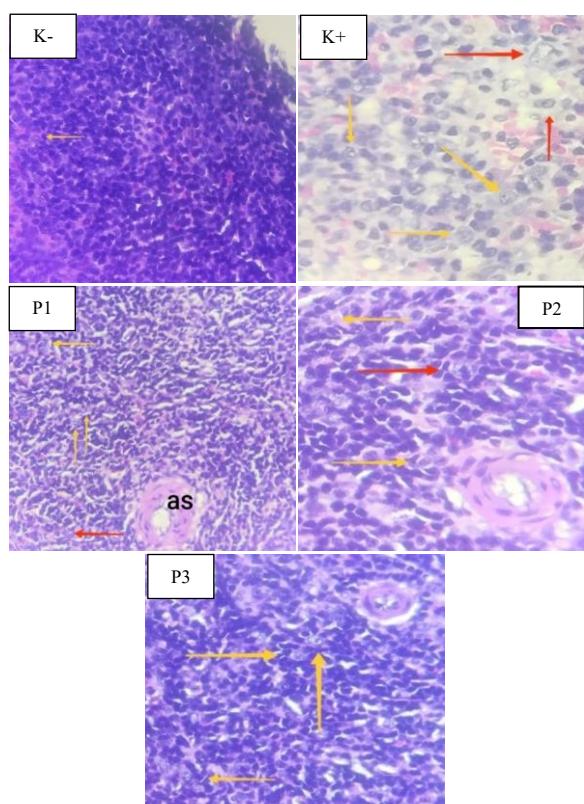
Pada limpa yang mengalami kerusakan lebih lanjut disebabkan karbon tetraklorida (CCl_4) dapat membuat limpa mengalami pembesaran diluar normal (splenomegalii) serta perubahan sel imun limpa akibat stress oksidatif sistemik (Sujono *et al.*, 2015). Selain itu Pendarahan pada jaringan limfoid juga dapat terjadi jika tikus yang dipakai mengalami trauma fisik seperti cedera (Hidayati *et al.*, 2018).



Gambar 1: Lesi perdarahan limpa. K- (minum dan pakan), K+ (CCl_4 1 mL/kgBB), P1 (ekstrak buah gandaria 100 mg/kgBB), P2 (ekstrak buah gandaria 150 mg/kgBB), P3(ekstrak buah gandaria 200 mg/kgBB). Perdarahan fokal (Lingkaran kuning), Perdarahan multifokal (lingkaran merah), arteri sentralis (as). Perbesaran 40X

Nekrosis dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya suplai darah kurang, zat toksin, tidak ada inervasi syaraf, suhu, sinar radio aktif dan trauma mekanik (Berata *et al.*, 2011). Karbon tetraklorida (CCl_4) yang diberikan dapat menyebabkan fibrosis hati, juga memicu nekrosis dan perubahan struktur histologis di limpa. Hal ini dipicu oleh stress oksidatif akibat peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyerang membran sel dan mitokondria limfosit menyebabkan peroksidasi lipid membran sehingga meningkatkan permeabilitas membran, disfungsi mitokondria dan penurunan produksi ATP. Kondisi tersebut menghambat terjadinya apoptosis terprogram dan mendorong terjadinya pembekakan sel yang diikuti ruptur (robek atau pecah) membran plasma yang merupakan ciri khas nekrosis. Hal ini sejalan dalam penelitian (Incalza *et al.*, 2017) yang menyatakan bahwa ROS menyebabkan permeabilitas membran dan menyebabkan kondisi-kondisi kerusakan sel (nekrosis).

Induksi karbon tetraklorida (CCl_4) juga dapat menyebabkan peningkatan berat hati, peningkatan kadar lemak yang tinggi, peningkatan kadar urea serum, aktivitas enzim hati yang meningkat, serta bukti histopatologis kerusakan hati berupa nekrosis sel tunggal (Kurniawidjaja *et al.*, 2021). Limpa merupakan organ limfoid sekunder sehingga hal ini juga dapat memberikan efek yang sejalan pada organ lainnya.



Gambar 2: Nekrosis jaringan limpa tikus. K- (minum dan pakan), K+ (CCl_4 1mL/kgBB), P1 (ekstrak buah gandaria 100 mg/kgBB), P2

(ekstrak buah gandaria 150 mg/kgBB), P3(ekstrak buah gandaria 200 mg/kgBB). nekrosis fokal (tanda panah kuning), nekrosis multifokal (tanda panah merah), arteri sentralis (as). Perbesaran 100X

Kerusakan pada sel limpa dapat diminimalisir dengan ekstrak buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) yang ditunjukkan dengan menurunnya skor lesi perdarahan maupun nekrosis dibandingkan dengan kontrol positif karbon tetraklorida (CCl₄). Hal ini dapat terjadi karena adanya kandungan antioksidan. Ekstrak buah gandaria yang digunakan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan tanin. Kandungan antioksidan pada buah gandaria ini dapat berperan sebagai agen yang dapat memperbaiki struktur jaringan dan sel. Senyawa metabolit berupa alkaloid bermanfaat untuk kesehatan sebagai antioksidan, hepatoprotektor dan analgesik (Debnath et al., 2018). Senyawa lain seperti saponin mampu memperkuat membran sel dan meningkatkan aktivitas antioksidan.

Selain alkaloid dan saponin, senyawa quercetin juga memiliki peran sebagai antioksidan yang berfungsi sebagai imunomodulator dan anti-inflamasi. Quercetin merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dalam menangkal radikal bebas dan menekan pembentukan ROS (Kang et al., 2022). Dalam mekanisme antioksidatifnya quercetin pada buah gandaria mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron dari gugus hidroksilnya untuk menetralkan radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid pada membran sel (Sul & Ra, 2021). Selain itu quercetin berperan dalam menghambat peroksidasi lipid dengan menurunkan pembentukan malondialdehid (MDA) serta menjaga stabilitas fosfolipid membran (Sul & Ra, 2021)

Pada penelitian ini digunakan dosis ekstrak bertingkat sebesar 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, 200 mg/kgBB. Berdasarkan hasilnya pemberian dosis ekstrak buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) bertingkat akan semakin menurunkan skor lesi perdarahan dan nekrosis pada dosis tertingginya sehingga didapatkan dosis optimal sebesar 200mg/kgBB, hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka semakin optimal juga dosis ekstrak tersebut dalam menyembuhkan kerusakan pada limpa tikus putih pada tingkat sel dan jaringan hal ini sejalan dengan penelitian (Hanani et al., 2005) yang menyatakan bahwa persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi dosis ekstrak.

Pengaruh Ekstrak Buah Gandaria terhadap Gambaran Histomorfometri Limpa

Pengamatan histomorfometri jaringan limpa untuk mengukur diameter pulpa putih, diameter germinal center, dan lebar zona marginalis. Hasil pengamatan histomorfometri dapat dilihat pada tabel 3.

Hasil uji *one way* ANOVA pengamatan terhadap rata-rata diameter pulpa putih didapatkan *P-value* signifikan sebesar 0,000 hal ini menunjukkan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) dan ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) memberikan pengaruh yang jelas terhadap diameter pulpa putih ($P<0,05$). Analisis lebih lanjut menggunakan uji Duncan, diperoleh data yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, didapatkan perbedaan antara kontrol negatif ($296,26\pm6,66$) dan kontrol positif ($541,80\pm25,53$). Hal ini membuktikan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) dengan dosis 1 mL/kgBB yang diinduksikan pada tikus putih selama 30 hari menyebabkan pelebaran diameter pulpa putih limpa tikus putih.

Tabel 3. Rata-Rata Pemeriksaan Histomorfometri Limpa Tikus Putih

Kelompok	Rata-Rata Diameter Pulpa Putih (μm) \pm SD	Rata-Rata Diameter Germinal Center (μm) \pm SD	Rata-Rata Lebar Zona Marginalis (μm) \pm SD
K-	$296,26\pm6,66^a$	$114,59\pm3,50^a$	$40,89\pm7,55^a$
K+	$541,80\pm25,53^d$	$229,78\pm28,04^c$	$75,17\pm32,89^b$
P1	$412,25\pm27,84^c$	$225,09\pm57,96^c$	$61,51\pm9,08^{ab}$
P2	$373,73\pm9,91^b$	$195,01\pm20,83^{bc}$	$56,30\pm1,53^a$
P3	$305,78\pm4,57^a$	$180,76\pm16,58^b$	$50,61\pm7,40^a$

$$P = \begin{matrix} \text{value} \\ \text{P} = 0.000 \\ \text{P} = 0.000 \\ \text{P} = 0.035 \end{matrix}$$

Keterangan : SD : Standar Deviasi, K- (minum dan pakan + minyak zaitun), K+ (CCl₄ 1mL/kgBB), P1 (CCl₄ 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 100 mg/kgBB), P2 (CCl₄ 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 150 mg/kgBB), P3 (CCl₄ 1 mL/kgBB + ekstrak buah gandaria 200 mg/kgBB). ^aNotasi angka yang diikuti huruf yang sama di dalam kolom menunjukkan perbedaan secara signifikan($P<0,05$).

Pelebaran pulpa putih dapat mengindikasikan awal kerusakan jaringan limpa yang diakibatkan proliferasi folikel limfoid karena terpapar produk peroksidasi lipid dan *reactive oxygen species* (ROS) yang beredar di dalam aliran darah, hal ini menunjukkan adanya aktivasi respon imun adaptif dimana sel limfosit mengalami proliferasi sebagai reaksi terhadap stress oksidatif dan kerusakan jaringan yang dipicu oleh zat toksik (Emam et al., 2023). Pulpa putih atau pulpa alba merupakan bagian dari limpa yang berfungsi sebagai sistem kekebalan tubuh untuk melawan infeksi (Filbert

et al., 2011). Pulpa putih limpa juga merupakan tempat pematangan dan penggandaan serta diferensiasi limfosit (Makiyah et al., 2014). Peningkatan diameter pulpa putih menandakan adanya peningkatan aktivitas sistem imun. Reaksi inflamasi yang disebabkan oleh masuknya agen penyakit akan menyebabkan migrasi dan berkumpulnya limfosit pada limpa, sehingga mempengaruhi ukuran diameter pulpa putih (Tasminatun et al., 2017).

Pulpa putih pada limpa merupakan bagian dari organ limfoid sekunder yang di dalamnya terdapat pusat germinal, tempat diferensiasi dan aktivasi sel limfosit T serta limfosit β berlangsung. Limfosit T berperan penting dalam mekanisme pertahanan imun seluler, sedangkan limfosit β merupakan sel yang bertanggung jawab dalam produksi antibodi (Abbas et al., 2016). Mekanisme toksitas ini berkaitan dengan peningkatan akumulasi lipid peroksida yang terbentuk akibat reaktivitas *reactive oxygen species* (ROS). ROS merupakan radikal bebas dengan elektron tunggal yang tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif terhadap molekul organik maupun anorganik. Produksi ROS berlebih di dalam sel menimbulkan ketidakseimbangan antara sistem oksidan dan antioksidan, sehingga memicu stress oksidatif yang berpotensi menyebabkan kerusakan struktural maupun fungsional pada sel (Kumar et al., 2007; Berata et al., 2011).

Pada tabel 3 juga menunjukkan bahwa diameter pulpa putih pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, hal ini menjelaskan terdapat penurunan diameter pulpa putih akibat adanya senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith). Kelompok P1 ($412,25 \pm 27,84$) dan P2 ($373,73 \pm 9,91$) menunjukkan beda nyata terhadap kelompok kontrol negatif ($296,26 \pm 6,66$), namun kelompok P3 ($305,78 \pm 4,57$) tidak menunjukkan beda nyata dengan kontrol negatif sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok yang diberi ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) pada kelompok P3 merupakan kelompok yang paling berpengaruh dalam mengecilkan diameter pulpa putih dengan dosis 200 mg/kg BB.

Penurunan diameter pulpa putih pada limpa diduga berkaitan erat dengan keberadaan senyawa quercetin dalam ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) yang berperan sebagai agen imunomodulator dengan aktivitas antioksidan dan imunomodulatornya. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, quercetin terbukti mampu memperbaiki kerusakan histopatologi limpa yang terpapar zat toksik dengan cara menekan stress oksidatif, menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi, serta menghambat apoptosis sel imun. Kondisi ini berkontribusi terhadap

penurunan sel limfosit pada pulpa putih sehingga hiperplasia folikel limfoid dapat ditekan dan ukuran pulpa putih dapat kembali mendekati kondisi normal (Farag et al., 2021).

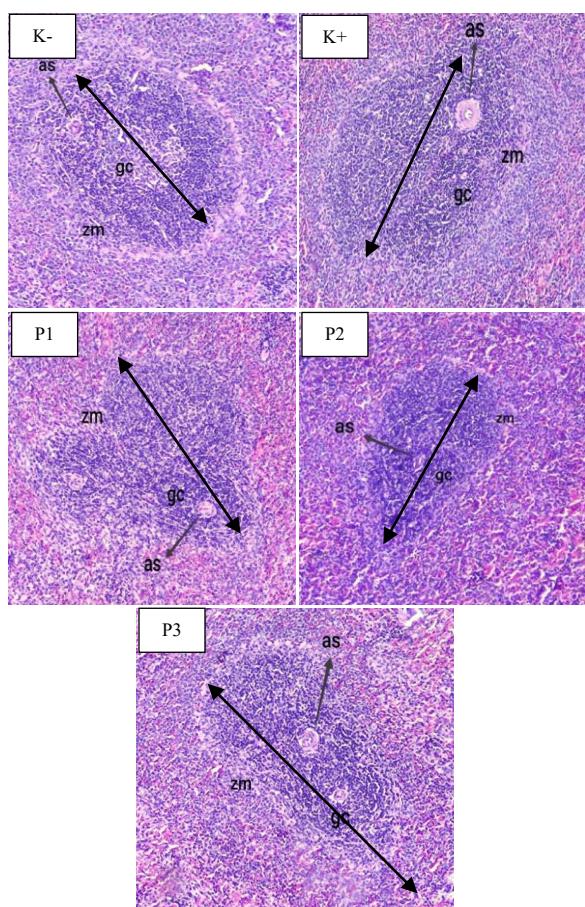
Penelitian lain juga menyebutkan bahwa quercetin dapat menghambat pembengkakan germinal center secara berlebihan, pulpa putih membesar salah satu penyebabnya juga karena terbentuk germinal center yang aktif akibat stimulasi antigen yang berlebihan. Quarcelin dalam ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) mampu menghambat produksi sitokin seperti IL-6 dan IL-21 yang berperan dalam pembentukan germinal center serta menurunkan aktivitas sel β dan sel T *helper* (Xiong et al., 2024).

Quercetin adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang berperan sebagai antioksidan. Ia dapat terkandung pada daun, kulit buah, daging buah, biji buah, batang hingga akarnya (Singh et al., 2021). Kemampuan quercetin dalam melindungi jaringan dari stress oksidatif dijalankan dengan mengaktifkan jalur inflamasi dan proliferasi limfosit, quercetin bertindak sebagai *radical scavenger* yang akan meningkatkan aktivitas SOD, CAT dan GPx serta menurunkan lipid perosidasi (MDA). Berkurangnya stress oksidatif menyebabkan aktivasi imun berlebih di pulpa putih menurun sehingga juga dapat menurunkan perbesarannya

Hasil uji *one way* ANOVA pengamatan terhadap rata-rata diameter germinal center didapatkan *P-value* signifikan sebesar 0.000 hal ini menunjukkan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) dan ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) memberikan pengaruh yang jelas terhadap diameter germinal center (*P*<0,05). Analisis lebih lanjut menggunakan uji Duncan, diperoleh data yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, didapatkan perbedaan antara kontrol negatif ($114,59 \pm 3,50$) dan kontrol positif ($229,78 \pm 28,04$). Hal ini membuktikan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl₄) dengan dosis 1 mL/kgBB yang diinduksikan pada tikus putih selama 30 hari menyebabkan pelebaran diameter germinal center.

Germinal center merupakan tempat sel-sel limfosit berkumpul dan berproliferasi saat sistem imunitas bekerja (Tasminatun et al., 2017). Germinal center juga merupakan pusat pendewasaan sel limfosit (Matheos et al., 2013). Menurut Rousdy dkk (2018) besarnya pulpa putih, germinal center, dan zona marginalis menandakan seberapa kuat imunostimulan berkerja. Germinal center tidak dijumpai pada semua pulpa putih. Germinal center akan muncul dan membesar, jika terjadi proses imunostimulasi pada sistem imun (Rousdy & Wardoyo, 2018).

Diameter germinal center yang meningkat dari kelompok kontrol positif, menunjukkan adanya peningkatan aktivitas respon sistem imun dan hiperplasia limfoid akibat proliferasi limfosit berlebih (Hidayah et al., 2022). Hal ini dikarenakan stress oksidatif yang menumpuk yang dihasilkan oleh transformasi karbon tetraklorida (CCl_4) yang menyebabkan kerusakan jaringan melalui pembentukan radikal bebas yang memicu stress oksidatif dan inflamasi sistemik. Kondisi ini meningkatkan pelepasan antigen endogen yang kemudian merangsang proliferasi limfosit β di folikel-folikel limfoid. Proliferasi sel β yang meningkat akan tampak secara histologis sebagai perbesaran germinal center (Elmore, 2006).



Gambar 3: Gambaran histologi limpa. K- (minum dan pakan + minyak zaitun), K+ (CCl_4 1 mL/kgBB), P1 (ekstrak buah gandaria 100 mg/kgBB), P2 (ekstrak buah gandaria 150 mg/kgBB), P3 (ekstrak buah gandaria 200 mg/kgBB). Keterangan: germinal center (gc), arteri sentralis (as), zona marginalis (zm), pulpa putih (↔). Perbesaran 10X

Pada tabel 3 juga menunjukkan bahwa diameter germinal center pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, hal ini menjelaskan terdapat penurunan diameter germinal center akibat adanya senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol buah gandaria

(*Bouea macrophylla* Griffith). Kelompok P1 ($225,09 \pm 57,96$) tidak menunjukkan beda nyata terhadap kelompok kontrol positif ($229,78 \pm 28,04$). kelompok P2 ($195,01 \pm 20,83$) menunjukkan adanya beda nyata terhadap kontrol positif, namun kelompok P3 ($180,76 \pm 16,58$) menunjukkan beda nyata yang signifikan dengan kontrol positif, walaupun notasinya tidak berada sama dengan kelompok kontrol negatif namun nilai rata-ratanya memiliki nilai yang paling mendekati dengan kontrol negatif dibandingkan kelompok perlakuan yang lain sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok yang diberi ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) pada kelompok P3 merupakan kelompok yang paling berpengaruh dalam mengecilkan diameter germinal center dengan dosis 200 mg/kg BB.

Penurunan area germinal center pada kelompok P3 terjadi karena adanya antioksidan yang terdapat dalam kandungan buah gandaria, salah satunya adalah quercetin. Quercetin adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang berperan sebagai antioksidan. Ia dapat terkandung pada daun, kulit buah, daging buah, biji, batang hingga akarnya (Singh et al., 2021). Quercetin dapat menghambat pembengkakan germinal center dengan memodulasi limfosit T *follicular helper* (Tfh) karena senyawa ini bersifat bioaktif, anti-inflamasi dan imunomodulator. Sehingga mampu menghambat diferensiasi dan aktivitas sel Tfh dengan menekan jalur inflamasi Sel Tfh (seperti NF- κ B dan STAT3), menurunkan ekspresi faktor transkripsi BCL-6, serta mengurangi produksi sitokin pendukung Tfh. Quercetin secara signifikan berperan menghambat diferensiasi sel CD4 $^+$ T menjadi sel Tfh dengan cara memodulasi ekspresi sitokin dan faktor transkripsi yang mendukung perkembangan Tfh, seperti IL-6 dan BCL-6 serta meningkatkan ekspresi IL-2 yang dapat menghambat jalur perkembangan Tfh tersebut. Limfosit Tfh merupakan pengatur utama proliferasi sel β di germinal center. Dengan begitu menurunkan jumlah dan aktivitas sel Tfh akan menurunkan kemampuan sel-sel tersebut untuk merangsang proliferasi sel β di germinal center, sehingga aktivitas folikel limfoid yang berlebihan dapat ditekan dan diameter germinal center akan diperkecil (Xiong et al., 2024). Hal ini juga didukung oleh Sulistyana (2015) yang mengatakan bahwa peningkatan diameter germinal center dikarenakan proliferasi limfosit β .

Hasil uji *one way* ANOVA pengamatan terhadap rata-rata lebar zona marginalis didapatkan *P-value* signifikan sebesar 0.035 hal ini menunjukkan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl_4) dan ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) memberikan pengaruh terhadap lebar zona marginalis

($P<0,05$). Analisis lebih lanjut menggunakan uji Duncan, diperoleh data yang menunjukkan adanya perbedaan, didapatkan perbedaan antara kontrol negatif ($40,89\pm7,55$) dan kontrol positif ($75,17\pm32,89$). Hal ini membuktikan bahwa pemberian karbon tetraklorida (CCl_4) dengan dosis 1 mL/kgBB yang diinduksikan pada tikus putih selama 30 hari menyebabkan pelebaran zona marginalis.

Peningkatan lebar area zona marginalis pada kontrol positif disebabkan karena zona marginalis berfungsi sebagai penyaring patogen dan antigen dalam sirkulasi sistemik dan berperan penting melawan antigen yang masuk ke dalam tubuh (Filbert et al., 2011). Antigen yang disaring masuk ke pulpa putih dan sampai di zona marginal, makrofag, dan sel dendritik akan mempresentasikan antigen ke limfosit β dan limfosit T untuk memulai respon (Hoffbrand et al., 2015). Paparan zat toksik seperti karbon tetraklorida (CCl_4) dengan dosis tertentu dapat memicu perubahan histopatologi pada limpa. Respon imun terhadap stress oksidatif yang dihasilkan dari ROS yang berasal dari CCl_4 akan memicu proliferasi limfosit di area sekitar pulpa putih yang kaya akan sel limfosit T termasuk ke area zona marginalis yang kaya akan sel limfosit β , sehingga secara histologis tampak pelebaran pada area zona marginalis (Hasan & Mohammed, 2025). Pulpa putih dan germinal center merupakan tempat berkumpulnya sel limfosit khususnya sel limfosit T. Sedangkan sel limfosit β berkumpul pada zona marginalis pulpa putih (Rousdy & Wardoyo, 2018). Menurut Rousdy dkk (2018) besarnya pulpa putih, germinal center, dan zona marginalis menandakan seberapa kuat imunostimulan berkerja.

Pada tabel 3 tersebut juga menunjukkan bahwa lebar zona marginalis pada kelompok perlakuan P1, P2, P3 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, hal ini menjelaskan terdapat penyempitan area zona marginalis akibat kandungan senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith). Kelompok P1 ($61,51\pm9,08$) menunjukkan beda nyata terhadap kontrol negatif ($75,17\pm32,89$), kelompok P2 ($56,30\pm1,53$) dan kelompok P3 ($50,61\pm7,40$) tidak menunjukkan beda nyata terhadap kontrol negatif, namun kelompok P3 lebih efektif dalam menurunkan lebar zona marginalis sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok yang diberi ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) pada kelompok P3 merupakan kelompok yang paling berpengaruh menurunkan lebar zona marginalis limpa dengan dosis 200 mg/kg BB.

Ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) yang mengandung kandungan senyawa metabolit sekunder terutama quercetin yang merupakan

antioksidan yang baik menangkal radikal bebas sehingga ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) berpotensi menstimulus proliferasi dan maturasi sel-sel leukosit, khususnya limfosit yang utamanya berkumpul pada organ limpa. Hal tersebut diduga berkaitan dengan stimulus produksi sitokin, suatu protein sinyal yang berperan penting dalam komunikasi antar sel leukosit (Rousdy & Wardoyo, 2018).

Kandungan quercetin pada ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) memberikan efek perlindungan pada organ limpa terutama dari stress oksidatif yang dihasilkan dari zat toksik seperti karbon tetraklorida (CCl_4) senyawa ini akan meningkatkan status antioksidan endogen limpa dan mengurangi peroksidasi lipid akibat radikal bebas triklorometil (CCl_3) yang dihasilkan oleh enzim sitokrom P450 (Mazani et al., 2020).

Pemberian ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith) secara oral selama 3 minggu pada tikus putih memberikan efek penyembuhan sel dan penyempitan pada diameter pulpa putih, diameter germinal center, dan lebar zona marginalis limpa tikus putih hal ini menunjukkan adanya perbaikan sel-sel limpa akibat adanya bantuan antioksidan yang terkandung pada buah gandaria yang termasuk dalam golongan kuat (Lolaen et al., 2013). Zat antioksidan memiliki kemampuan dalam menstabilkan jaringan sel yang mengalami kerusakan akibat paparan dari karbon tetraklorida (CCl_4) (Octaviani et al., 2017). keberadaan senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, naphthalene, dan azulene diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi, imunostimulator, serta antioksidan dapat menekan pembentukan ROS (Dur et al., 2024).

KESIMPULAN

Berdasarkan tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griffith.) terhadap gambaran morfohistologis limpa tikus putih yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4), dapat disimpulkan bahwa induksi CCl_4 dosis 1 mL/kgBB secara signifikan menyebabkan kerusakan jaringan limpa berupa peningkatan lesi perdarahan dan nekrosis serta pelebaran diameter pulpa putih, diameter germinal center, dan lebar zona marginalis, meskipun tidak menimbulkan perubahan morfologi makroskopik organ limpa. Pemberian ekstrak etanol buah gandaria terbukti mampu memperbaiki kerusakan histologis dan menormalkan parameter histomorfometri limpa, dengan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efek paling optimal dan mendekati kondisi normal. Temuan ini menegaskan bahwa ekstrak etanol buah gandaria memiliki potensi protektif dan terapeutik terhadap kerusakan limpa akibat stres oksidatif yang diinduksi CCl_4 , yang diduga kuat

berkaitan dengan aktivitas antioksidan dan imunomodulator senyawa metabolit sekundernya, khususnya flavonoid seperti quercetin. Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi baru bahwa buah gandaria berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami dalam pencegahan dan perbaikan kerusakan jaringan limpa akibat paparan zat toksik.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abu-Serie, M. M., Hamouda, A. F., & Habashy, N. H. (2021). Acacia senegal gum attenuates systemic toxicity in CCl4-intoxicated rats via regulation of the ROS/NF- κ B signaling pathway. *Scientific Reports*, 11(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99953-y>
- Amira, S., Febriani, H., Syukriah, S., & Faizah Ulinnuha Nur. (2023). Morpho-histological Study of the Rat Spleen Post-Induction of Sodium Nitrite and Acorus calamus L. Rhizome Ethanolic Extract. *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya*, 5(2), 87–97. <https://doi.org/10.26740/jrba.v5n2.p.89-97>
- Cheong, Y., Kim, C., Kim, M. B., & Hwang, J. K. (2018). The anti-photoaging and moisturizing effects of Bouea macrophylla extract in UVB-irradiated hairless mice. *Food Science and Biotechnology*, 27(1), 147–157. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0276-y>
- Debnath, B., Somraj, W., Das, M., Goswami, S., Kumar, M., Maiti, D., & Manna, K. (2018). Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials Today Chemistry*, 9, 56–72. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2018.05.001>
- Dechsupa, N., Kantapan, J., Tungjai, M., & Intorasoot, S. (2019). Maprang “Bouea macrophylla Griffith” seeds: proximate composition, HPLC fingerprint, and antioxidation, anticancer and antimicrobial properties of ethanolic seed extracts. *Helijon*, 5(7), e02052. <https://doi.org/10.1016/j.helijon.2019.e02052>
- Dur, S., Widiarti, L., Octaviani, A., Syahputra, R. A., & Arianti, R. (2024). COMPREHENSIVE STUDY OF CEPLUKAN FRUIT (*Physalis angulata L.*) USING GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS). 17(4), 2075–2079.
- EL Sayed, H. E. S. A., Morsy, L. E. S., Abo Emara, T. M., & Galhom, R. A. (2019). Effect of Carbon Tetrachloride (CCl4) on Liver in Adult Albino Rats: Histological study. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 76(6), 4254–4261. <https://doi.org/10.21608/ejhm.2019.43804>
- Elmore, S. A. (2006). Enhanced Histopathology of the Spleen. *Toxicologic Pathology*, 34(5), 648–655.
- Emam, M. A., Farouk, S. M., Aljazzar, A., Abdelhameed, A. A., Eldeeb, A. A., & Gad, F. A. (2023). Curcumin and cinnamon mitigates lead acetate-induced oxidative damage in the spleen of rats. *Front. Pharmacol*, January, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1072760>
- Farag, M. R., Moselhy, A. A. A., El-mleeh, A., Aljuaydi, S. H., Ismail, T. A., Cerbo, A. Di, Crescenzo, G., & Abou-zeid, S. M. (2021). Quercetin Alleviates the Immunotoxic Impact Mediated by Oxidative Stress and Inflammation Induced by Doxorubicin Exposure in Rats. *Antioxidants*, 10(1906), 1–18. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox10121906>
- Fu'adah, I. T., Sumiwi, S. A., & Wilar, G. (2022). The Evolution of Pharmacological Activities Bouea macrophylla Griffith In Vivo and In Vitro Study: A Review. *Pharmaceuticals*, 15(2), 1–23. <https://doi.org/10.3390/ph15020238>
- Hanani, E., Mun'im, A., & Sekarini, R. (2005). IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN DALAM SPONS CALLYSPONGIA SP DARI KEPULAUAN SERIBU. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 127–133.
- Hasan, H. F., & Mohammed, J. A. (2025). The Protective Role of Camellia Sinensis Leaves Extract Against Histopathological Changes in Spleen of Rats that Induced by DEN and CCl4. *Journal of Medical Genetics and Clinical Biology*, 2(8), 366–374. <https://doi.org/https://doi.org/10.61796/jmgcb.v2i8.1377>
- Hernandez, A. M. (2002). Peripheral blood manifestations of lymphoma and solid tumors. *Clinics in Laboratory Medicine*, 22(1), 215–252. [https://doi.org/10.1016/S0272-2712\(03\)00073-8](https://doi.org/10.1016/S0272-2712(03)00073-8)
- Hidayah, N., Rahmawati, I., Amelia, J., & Prakoso, Y. A. (2022). PENGARUH EKSTRAK TEH KOMBUCHA (Medusomyces gisevii) TERHADAP BERAT DAN HISTOPATOLOGIS LIMPA TIKUS WISTAR (Rattus norvegicus) YANG DIINFEKSI Escherichia coli Vol. 12 No. 1, Mei 2022 BERAT DAN HISTOPATOLOGIS LIMPA TIKUS WISTAR (Rattus norvegicus). *Jurnal Vitek Bidang Kedokteran Hewan*, 12(1), 26–34.
- Hidayati, E., Berata, I. K., Samsuri, S., Sudimartini, L. M., & Merdana, I. M. (2018). Gambaran Histopatologi Limpa Tikus Putih yang Diberi Deksametason dan Vitamin E. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(1), 18. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2018.v10.i01.p03>
- Incalza, M. A., Oria, R. D., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., & Giorgino, F. (2017). NU SC. *Vascular Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>
- Kang, S. G., Lee, G. B., Vinayagam, R., Do, G. S., Oh, S. Y., Yang, S. J., Kwon, J. B., & Singh, M. (2022). Anti-Inflammatory, Antioxidative, and Nitric Oxide-Scavenging Activities of a Quercetin Nanosuspension with Polyethylene Glycol in LPS-Induced RAW 264.7

- Macrophages. *Molecules*, 27(7432), 1–21. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules27217432>
- Kurniawidjaja, L. M., Lestari, F., Tejamaya, M., & Ramdhani, D. H. (2021). Konsep Dasar Toksikologi Industri. In *Fkm Uj*.
- Lolaen, L. A. C., Fatimawali, & Citraningtyas, G. (2013). UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN KANDUNGAN FITOKIMIA JUS BUAH GANDARIA (Bouea macrophylla Griffith). *PHARMACON JURNAL ILMIAH FARMASI UNSRAT*, 2(02), 1–8.
- Makiyah, S., Iszamriach, R., & Nofariyandi, A. (2014). Paparan Ultraviolet C Meningkatkan Diameter Pulpa Alba Limpa dan Indeks Mitotik Epidermis Kulit Mencit. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(1), 17–21.
- Matheos, C., Lintong, P., & Kairupan, C. (2013). GAMBARAN HISTOLOGIK JARINGAN LIMPA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINFEKSI *ESCHERICHIA COLI* DAN DIBERI MADU. *Jurnal E-Biomedik (EBM)*, 1(2), 961–965.
- Mazani, M., Rezagholizadeh, L., Shamsi, S., Ojarudi, M., Salimnejad, R., & Salimi, A. (2020). Protection of CCl₄-induced hepatic and renal damage by linalool. *Drug and Chemical Toxicology*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.1080/01480545.2020.1792487>
- Meaden, C. W., Procopio, G., Calello, D. P., Nelson, L. S., Ruck, B., Gupta, A., & Jacob, J. E. (2020). Carbon tetrachloride poisoning from an antique fire extinguisher. *American Journal of Emergency Medicine*, 38(10), 2139–2141. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.07.052>
- Murthy, H. N., & Bapat, V. A. (2020). Bioactive compounds in underutilized Fruits and Nuts. In H. N. Murthy & V. A. Bapat (Eds.), *Springer International Publishing* (1st ed.). <https://doi.org/10.1007/978-3-030-30182-8>
- Normasiwi, F., & Setiorini. (2020). Utilization of mango ginger (*Curcuma mangga* Val.) rhizome extracts to decrease serum bilirubin in male rats (*Rattus norvegicus* L.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 481(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/481/1/012019>
- Octaviany, V., Yusmaini, H., & Simanjuntak, K. (2017). UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK KULIT APEL (Malussylvestris-mill) VAR. Rome Beauty TERHADAP KADAR ENZIM SGPT TIKUS (*Rattusnorvegicus*) GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI CCL4 (KARBONETRAKLORIDA). *Jurnal Profesi Medika*, 11(2), 56–62.
- Padauleng, N., & Nurhidayati, N. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) terhadap Fibrosis Hepat pada Tikus yang Diinduksi Karbon Tetraklorida. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 29(2), 139–142.
- Retnaningsih, C., Darmono, Widianarko, B., & Muis, S. F. (2013). PENINGKATAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SUPEROKSIDA DISMUTASE PADA TIKUS HIPERGLIKEMI DENGAN ASUPAN TEMPE KORO BENGUK (*Mucuna pruriens* L.) (Increased Superoxide Dismutase Antioxidant Activity in Hyperglycemia Rat with Velvet Bean (*Mucuna pruriens* L.) Tempe Diet). *Agritech*, 33(02), 154–161.
- Rousdy, D. W., & Wardoyo, E. R. P. (2018). *HISTOLOGI LIMPA DAN HEMATOLOGI MENCIT YANG DIINFEKSI Escherichia coli SETELAH PEMBERIAN ASAM HUMAT GAMBAT KALIMANTAN*. 5(2), 168–176. <http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBB>
- Singh, P., Arif, Y., Bajguz, A., & Hayat, S. (2021). Plant Physiology and Biochemistry The role of quercetin in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.05.023>
- Sujono, T. A., Wahyuni, A. S., Da, M., Trisharyanti, I., & Kusumowati, D. (2015). PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL MENIRAN (*Phyllanthus*). 136–142.
- Sukalingam, K. (2018). Preliminary Phytochemical Analysis and In Vitro Antioxidant Properties of Malaysian “Kundang” (Bouea Macrophylla Griffith). *Trends in Phytochemical Research (TPR) Trends Phytochem. Res.*, 2(4), 261–266. <https://sanad.iau.ir/journal/tpr/Issue/39981>
- Sul, O.-J., & Ra, S. W. (2021). Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF- κ B in Lung Epithelial Cells. *Molecules*, 26(6949), 1–11. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules26226949>
- Tasminatun, S., Pravitasari, R., & Makiyah, S. N. N. (2017). POTENTIAL ETHANOL OF *Carica papaya* L. EXTRACT AS IMMUNOMODULATORY THROUGH HISTOLOGY OBSERVATION AT MICE BALB /C SPLEEN. *Berkala Kedokteran*, Vol. 13 No. 2, Sep 2017:205–210, 13(2), 205–210.
- Xiong, F., Shen, K., Long, D., Zhou, S., Ruan, P., Xin, Y., Xiao, Y., Peng, W., Yang, M., Wu, H., & Lu, Q. (2024). Quercetin ameliorates lupus symptoms by promoting the apoptosis of senescent Tfh cells via the Bcl-2 pathway. 21(69), 1–14. [https://doi.org/\(2024\)21:69](https://doi.org/(2024)21:69) <https://doi.org/10.1186/s12979-024-00474-9>
- Yeo, Y. L., Chia, Y. Y., Lee, C. H., Sheng Sow, H., & Sum Yap, W. (2014). Effectiveness of Maceration Periods with Different Extraction Solvents on in-vitro Antimicrobial Activity from Fruit of *Momordica charantia* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(10), 16–23. <https://doi.org/10.7324/japs.2014.401004>