

Effect of Ethanol Extract of Mobe Leaves (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) on Carbon Tetrachloride Induced Rat Liver Histopathology

Efek Ekstrak Etanol Daun Mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) terhadap Histopatologi Hati Tikus Diinduksi Karbon Tetraklorida

Meiva Amelia Lubis ^{a*}, Aminah Dalimunthe ^b, Panal Sitorus ^b, Denny Satria ^b, Indah Pertiwi ^a, Damayanti S ^c

^a Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Health, Institut Kesehatan Helvetia, Sumatera Utara, Indonesia.

^b Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara, Indonesia.

^c Department of Clinical Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Prima Indonesia, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: meivalubis@helvetia.ac.id

Abstract

Background: Liver injury due to exposure to hepatotoxic chemicals remains a major problem in the medical and pharmaceutical fields. Carbon tetrachloride (CCl₄) is a classic hepatotoxic agent that induces oxidative stress, lipid peroxidation, and hepatocyte necrosis through free radical formation. Mobe leaves (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) contain bioactive compounds, particularly flavonoids and phenolics, which possess antioxidant and anti-inflammatory properties with potential hepatoprotective effects. **Objective:** This study aimed to evaluate the effect of ethanol extract of mobe leaves (EEML) on the liver histopathology of rats induced with carbon tetrachloride. **Methods:** This experimental study used a post-test only control group design. Twenty-five male rats were divided into five groups: negative control (CMC-Na 1% + CCl₄), positive control (silymarin 100 mg/kgBW + CCl₄), and three treatment groups receiving EEML at doses of 50, 100, and 200 mg/kgBW + CCl₄. Hepatotoxicity was induced by intraperitoneal injection of CCl₄ (1 mL/kgBW) twice weekly for 14 days. Liver tissue was processed for hematoxylin-eosin staining, and histopathological changes (hepatocyte degeneration, necrosis, and inflammatory cell infiltration) were assessed semi-quantitatively using a scoring system (0-3). **Results:** CCl₄ induction caused severe liver damage in the negative control group, characterized by diffuse hydropic degeneration, extensive necrosis, and marked inflammatory infiltration (score 3 for all parameters). EEML administration significantly reduced liver injury in a dose-dependent manner. The 200 mg/kgBW dose showed the most pronounced hepatoprotective effect, with degeneration score 2, necrosis score 1, and inflammation score 2, approaching the protective effect of silymarin (score 1 for all parameters). **Conclusion:** Ethanol extract of mobe leaves demonstrated hepatoprotective activity against CCl₄-induced liver damage in rats, with the optimal effect at 200 mg/kgBW. These findings support the potential of mobe leaves as a natural hepatoprotective agent.

Keywords: Carbon Tetrachloride, Ethanol Extract of Mobe Leaves, Hepatoprotection, Liver Histopathology.

Abstrak

Latar Belakang: Kerusakan hati akibat paparan bahan kimia hepatotoksik masih menjadi masalah utama dalam bidang kesehatan dan farmasi. Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan agen hepatotoksik klasik yang menginduksi stres oksidatif, peroksidasi lipid, dan nekrosis hepatosit melalui pembentukan radikal bebas. Daun mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) mengandung senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan fenolik, yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi berpotensi sebagai hepatoprotektor. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak etanol daun mobe (EEDM) terhadap gambaran histopatologi hati tikus yang diinduksi karbon tetraklorida. **Metode:** Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan *post-test only control group*. Dua puluh lima ekor tikus jantan dibagi menjadi lima

kelompok: kontrol negatif (Na CMC 1% + CCl₄), kontrol positif (silymarin 100 mg/kgBB + CCl₄), dan tiga kelompok perlakuan yang menerima EEDM dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB + CCl₄. Hepatotoksisitas diinduksi dengan injeksi CCl₄ (1 mL/kgBB) intraperitoneal dua kali seminggu selama 14 hari. Jaringan hati diproses untuk pewarnaan hematoxilin-eosin, dan perubahan histopatologi (degenerasi hepatosit, nekrosis, dan infiltrasi sel inflamasi) dinilai secara semikuantitatif menggunakan sistem skor (0-3). **Hasil:** Induksi CCl₄ menyebabkan kerusakan hati berat pada kelompok kontrol negatif, ditandai dengan degenerasi hidropik difus, nekrosis luas, dan infiltrasi inflamasi nyata (skor 3 untuk semua parameter). Pemberian EEDM secara signifikan menurunkan kerusakan hati bersifat tergantung dosis. Dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efek hepatoprotektif paling nyata dengan skor degenerasi 2, nekrosis 1, dan inflamasi 2, mendekati efek perlindungan silymarin (skor 1 untuk semua parameter). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun mobe memiliki aktivitas hepatoprotektif terhadap kerusakan hati yang diinduksi CCl₄ pada tikus, dengan efek optimal pada dosis 200 mg/kgBB. Temuan ini mendukung potensi daun mobe sebagai agen hepatoprotektif alami.

Kata Kunci: Karbon Tetraklorida, Ekstrak Etanol Daun Mobe, Hepatoprotektif, Histopatologi Hati.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 11/12/2025,
Revised: 15/02/2026,
Accepted: 16/02/2026,
Available Online: 16/02/2026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i1.1432>

Pendahuluan

Hati merupakan organ penting dalam sistem metabolisme dan detoksifikasi tubuh yang berperan penting dalam biotransformasi senyawa endogen maupun xenobiotik. Kerusakan struktur dan fungsi hati dapat berdampak sistemik dan berujung pada gangguan kesehatan yang serius, termasuk peningkatan risiko morbiditas dan mortalitas [1]. Hal ini menyebabkan hati sering menjadi sasaran toksikan karena zat-zat toksik masuk ke tubuh melalui sistem gastrointestinal yang kemudian diserap dan dibawa oleh vena porta ke hati. Proses ini menyebabkan hepatosit menjadi target awal paparan zat toksik sehingga dapat memicu perubahan secara struktur sel ataupun gangguan fungsi pada hati [1,2].

Paparan bahan kimia toksik, konsumsi obat jangka panjang, serta faktor lingkungan diketahui sebagai penyebab utama terjadinya kerusakan hati. Karbon tetraklorida (CCl₄) merupakan agen hepatotoksik klasik yang digunakan dalam penelitian eksperimental karena kemampuannya menghasilkan gambaran kerusakan hati dengan pola lesi yang konsisten, terukur dan dapat direproduksi [2-4].

Mekanisme toksisitas CCl₄ terutama dimediasi oleh bioaktivasi melalui enzim sitokrom P450, khususnya isoenzim CYP2E1, yang menghasilkan radikal bebas triklorometil ($\bullet\text{CCl}_3$). Radikal ini sangat reaktif dan cepat berikatan dengan oksigen membentuk radikal peroksil ($\bullet\text{OOCCL}_3$). Spesies reaktif tersebut memicu peroksidasi lipid membran, kerusakan fosfolipid, peningkatan permeabilitas membran, serta gangguan homeostasis ionik. Rangkaian proses ini berujung pada degenerasi sel, nekrosis hepatosit, dan aktivasi respons inflamasi, terutama pada zona sentrilobular yang memiliki aktivitas enzim metabolik tertinggi [2,6,7].

Salah satu pendekatan utama untuk menilai kerusakan hati adalah dengan melalui pemeriksaan histopatologi karena metode ini memungkinkan pengamatan secara langsung morfologi dan struktur histologi jaringan serta derajat kerusakan pada organ hati. Secara histopatologis, kerusakan hati akibat induksi CCl₄ ditandai oleh degenerasi hidropik, steatosis, nekrosis hepatosit, serta infiltrasi sel inflamasi. Gambaran ini menjadikan model CCl₄ sebagai standar eksperimental dalam evaluasi agen hepatoprotektif pada penelitian praklinis [9-11].

Stres oksidatif dan peroksidasi lipid merupakan mekanisme kunci dalam patogenesis cedera hati akibat toksikan. Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kapasitas sistem antioksidan endogen menyebabkan kerusakan biomolekul penting seperti lipid, protein dan DNA. Oleh karena itu, strategi proteksi hati banyak difokuskan pada peningkatan kapasitas antioksidan dan penekanan jalur inflamasi oksidatif [1,3,8].

Pemanfaatan tanaman obat sebagai sumber agen hepatoprotektif terus berkembang seiring meningkatnya perhatian terhadap efek samping obat sintesis. Berbagai senyawa fitokimia, terutama flavonoid dan polifenol, dilaporkan memiliki kemampuan dalam menekan stres oksidatif dan respon inflamasi pada jaringan hati [3,12,13].

Salah satu tanaman yang berpotensi dikembangkan sebagai agen hepatoprotektif adalah mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.), famili Moraceae yang secara empiris telah digunakan dalam pengobatan tradisional. Daun tanaman ini dilaporkan mengandung flavonoid, tanin dan senyawa fenolik lain dengan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang kuat [6,12].

Beberapa penelitian terdahulu melaporkan bahwa ekstrak etanol daun mobe (*Artocarpus lacucha*) mampu menurunkan kadar enzim transaminase serum dan memperbaiki kondisi makroskopis hati pada model hewan uji [17-19]. Namun demikian, kajian yang secara khusus mengevaluasi perbaikan struktur jaringan hati melalui analisis histopatologi secara semikuantitatif masih relatif terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini penting untuk memperkuat bukti histopatologi mengenai efek hepatoprotektif daun mobe melalui pendekatan skoring semikuantitatif.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dan pendekatan semikuantitatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak etanol daun mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) terhadap gambaran histopatologi hati tikus yang diinduksi Karbon tetraklorida (CCl_4) [2,6].

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) dengan dosis 50, 100, 200 mg/kg BB [16,19]. Variabel terikat adalah perubahan gambaran histopatologi jaringan hati tikus yang diamati melalui pemeriksaan mikroskopik menggunakan metode pewarnaan hematoxilin eosin (HE) dan dinilai secara semi kuantitatif berdasarkan parameter kerusakan hati tikus yaitu degenerasi hidropik, nekrosis dan inflamasi [9,10].

Penelitian dilaksanakan pada tahun 2024 di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara. Seluruh prosedur penggunaan hewan uji telah memperoleh persetujuan dari Komite Etik hewan penelitian FMIPA-Universitas Sumatera Utara (*Animal Research Ethics Committees/AREC*) : No.0226/KEPH-FMIPA/2023.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kandang tikus, neraca hewan (Sartorius), sonde, mikrotom, objek glass, cover glass, pot sampel, cool box, neraca analitik (Mettler Toledo), *microscope inverted* (Carl Zeiss), oral sonde, spuit 1 ml, spuit 3 ml, waterbath, oven (Mettler), desikator, gelas ukur (iwaki pyrex), erlenmayer (iwaki pyrex), beaker glass (iwaki pyrex), alat bedah minor, pinset, sarung tangan, tisu dan kamera.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.), Silymarin (Aldrich), Karbon Tetraklorida (Smart Lab), Minyak Jagung (Mazola), Na CMC (Merck), Akuades, Larutan NaCl 0,9% (PT. Widatra Bhakti), EDTA (Merck), Larutan *Natural Buffered Formalin* 10% (Paraform), Ketamine HCl Larutan injeksi 50 mg/ml (OGB Dexa), larutan hematoxilin eosin, parafin, alkohol bertingkat (70, 80, 90, 96 %), xylol, toluen.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Suspensi Na CMC 1%

Penggunaan Na CMC (kontrol negatif) sebagai vehikulum tanpa ekstrak dan tetap diinduksi dengan karbon tetraklorida (CCl_4) untuk menggambarkan derajat kerusakan hati tanpa perlakuan protektif. Pembuatan suspensi Na CMC 1% dilakukan dengan cara sebagai berikut: sebanyak 1 gram Na CMC ditaburkan kedalam lumpang yang diisi air panas sebanyak 20 ml. Didiamkan selama 15 menit kemudian

digerus hingga diperoleh massa yang transparan, diencerkan dengan air sedikit, kemudian dituang kedalam labu ukur 100 ml, ditambahkan air suling sampai batas tanda.

Pembuatan Suspensi Silymarin

Penggunaan silymarin (kontrol positif) sebagai pembanding hepatoprotektor sebelum induksi CCl_4 pada model cedera hati eksperimental [2,4,5,14]. Silymarin ditimbang 2,5 gram, dimasukkan kedalam lumpang, kemudian tuang sedikit demi sedikit suspensi Na CMC 1% sambil digerus hingga homogen, setelah homogen dicukupkan sampai dengan 85 mg suspensi Na CMC 1%, sehingga didapat dosis Silymarin 100 mg/KgBB.

Pembuatan Karbon Tetraklorida

Karbon tetraklorida digunakan sebagai agen penginduksi kerusakan hati secara eksperimental karena mampu menghasilkan cedera hepatoseluler yang konsisten dan dapat direproduksi [2-6]. CCl_4 tidak dapat larut dalam air dan hanya larut dalam lemak, sehingga diperlukan pelarut berupa minyak seperti minyak jagung (*Oleum maydis*) dengan perbandingan dosis 1:1 [2-6]. Pembuatan larutan CCl_4 yaitu dengan memasukkan 20 ml CCl_4 kedalam botol yang sudah berisi *Oleum maydis* dan di ad sampai 40 ml, kemudian kocok, hingga homogen dan tutup rapat. Induksi CCl_4 dengan dosis 1ml/kgg BB pada tikus putih sebanyak 2 kali yang diberikan dalam rentang waktu 2 minggu [2,3,6,7].

Pembuatan Suspensi EEDM

Pengujian akan digunakan 4 variasi dosis yakni dosis 400, 200, 100, 50 mg/KgBB. Ditimbang 9 gram EEDM. Dimasukkan kedalam lumpang, kemudian tuang sedikit demi sedikit suspensi Na CMC 1% sambil digerus hingga homogen, setelah homogen dicukupkan sampai dengan 150 mg suspensi Na CMC 1%, sehingga didapat dosis EEDM 400 mg/KgBB. Perlakuan yang sama digunakan untuk dosis 200, 100, 50 mg/KgBB [19].

Penyiapan Hewan Percobaan

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan sebanyak 30 ekor dengan berat rata-rata 200 gram yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Penentuan jumlah subjek minimal ditentukan berdasarkan rumus Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, bahwa t merupakan jumlah perlakuan, sehingga didapatkan $n \geq 4$. Tikus jantan dibagi dalam 6 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus jantan dimana kelompok 1-4 sebagai kelompok uji (variasi dosis dari ekstrak) dan CCl_4 , kelompok 5 adalah suspensi Silymarin dan CCl_4 , kelompok 6 adalah Na CMC dan CCl_4 . Sebelum perlakuan, hewan percobaan diaklimasi terlebih dahulu selama 1 minggu dalam kandang yang baik untuk menyesuaikan lingkungannya. Ditimbang berat badan tikus dengan menggunakan neraca hewan sebelum dan sesudah dilakukan pemberian *treatment* pada masing-masing kelompok uji.

Prosedur Perlakuan

Pada percobaan ini tikus dibagi kedalam 6 kelompok dan diberikan:

Kelompok	Perlakuan
I	diberi Na CMC 1% dan CCl_4 secara i.p 1 ml/kg BB 1 kali dalam seminggu (kontrol negatif Na CMC 1 %)
II	diberi sediaan suspensi Silymarin 100 mg/KgBB dan CCl_4 secara i.p 1 ml/kg BB 1 kali dalam seminggu (kontrol positif)
III	diberi sediaan suspensi ekstrak EEDM 50 mg/KgBB dan CCl_4 secara i.p 1 ml/kg BB 1 kali dalam seminggu
IV	diberi sediaan suspensi ekstrak EEDM 100 mg/KgBB dan CCl_4 secara i.p 1 ml/kg BB 1 kali dalam seminggu
V	diberi sediaan suspensi ekstrak EEDM 200 mg/KgBB dan CCl_4 secara i.p 1 ml/kg BB 1 kali dalam seminggu
VI	diberi sediaan suspensi ekstrak EEDM 400 mg/KgBB dan CCl_4 secara i.p 1 ml/kg BB 1 kali dalam seminggu

Setelah 14 hari tikus dikorbankan dengan anestesi ketamin 0,2 ml secara i.p dan diambil darah dari jantung (intra kardial) untuk memperoleh serum dan plasma, kemudian dianalisis kadar biomarker hati dan dilakukan pengamatan makropatologi organ hati tikus.

Pembuatan Preparat

Untuk pengambilan sampel organ hati, tikus putih dibunuh dengan ketamin 0,2 ml secara intravena. Kemudian, kulit perut tikus dibuka dan selubung peritoniumnya dibersihkan dengan alkohol 70% (v/v). Organ hati ditimbang sebelum dimasukkan ke dalam pot plastik setelah dibersihkan dari selaput-selaput dengan natrium klorida 0,9%. Selama dua puluh empat jam, organ hati difiksasi dalam larutan NBF 10%. Setelah itu, organ hati didehidrasi dan dibersihkan dalam satu sesi larutan alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, dan 90% absolut). Kemudian, sel yang dituangi parafin cair dimasukkan ke dalam sampel organ, yang kemudian didinginkan. Untuk memotong blok yang sudah dingin, microtom digunakan dengan ketebalan $\pm 4-5$ mikron. Setelah itu, blok tersebut diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) [9-11]. Evaluasi histopatologi cedera hati eksperimental biasanya dilakukan dengan metode ini [9-11].

Pemeriksaan Sediaan Histopatologi

Pengamatan histopatologi dilakukan pada lima lapang pandang setiap preparat dengan perbesaran $100\times$ dan $400\times$. Derajat kerusakan hati dinilai secara semikuantitatif berdasarkan parameter degenerasi hidropik, nekrosis, dan infiltrasi sel inflamasi menggunakan sistem skoring cedera hati eksperimental, dengan kriteria: skor 0 (normal/tidak ada kerusakan), skor 1 (kerusakan fokal/ringan), skor 2 (kerusakan multifokal/sedang), dan skor 3 (kerusakan difus/berat) [9-11].

Analisis Data

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan nyata antar kelompok perlakuan, analisis data dilakukan menggunakan program SPSS dengan uji *One-way* ANOVA dengan $\alpha = 0.05$. Nilai probabilitas (p) dianggap tidak berbeda nyata jika nilai probabilitas (p) lebih besar dari atau kurang dari 0.05. Analisis non parametrik Kruskal Wallis dan uji Mann Whitney digunakan untuk menganalisis data yang diperoleh [9-11].

Hasil dan Pembahasan

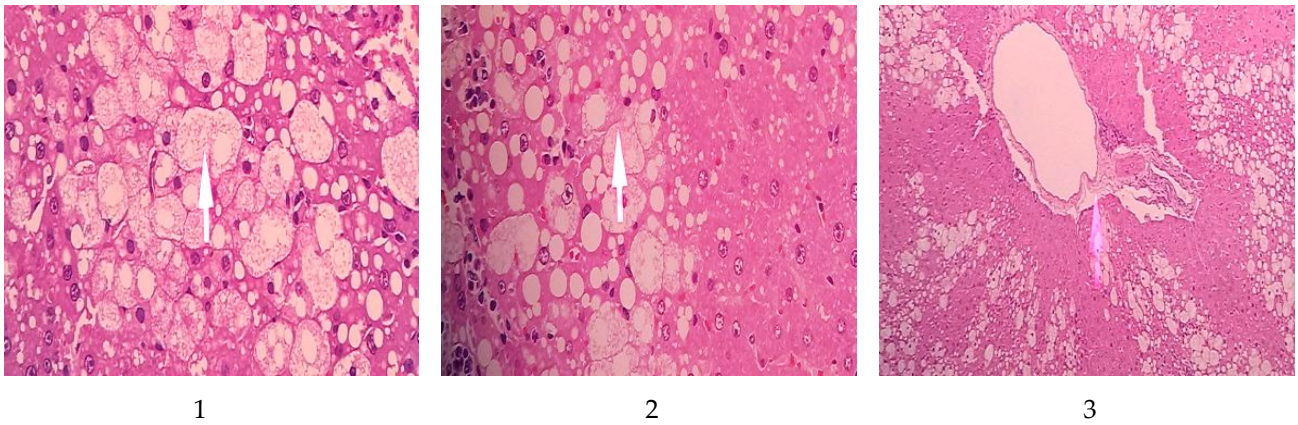
Hati sangat rentan terhadap kerusakan akibat paparan zat toksik dan stres oksidatif karena merupakan organ utama yang bertanggung jawab untuk metabolisme dan detoksifikasi senyawa endogen maupun xenobiotik [1-3]. Bahan kimia toksik seperti karbon tetraklorida (CCl_4) dapat menyebabkan kerusakan hati yang berkelanjutan melalui proses pembentukan radikal bebas dan peroksidasi lipid [2,6,7].

Pemeriksaan histopatologi secara mikroskopik dapat digunakan untuk mengkonfirmasi kerusakan hati karena dapat mendeteksi perubahan struktural seperti degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi [9-11]. Cedera sel reversibel yang ditandai dengan akumulasi cairan intraseluler yang menyebabkan pembengkakan sitoplasma dikenal sebagai degenerasi hidropik. Kematian sel yang tidak dapat diperbaiki, yang ditunjukkan oleh perubahan inti seperti piknosis, karioreksis, dan kariolisis, bersama dengan kehilangan batas membran sel, dikenal sebagai nekrosis. Infiltrasi sel radang, terutama sel mononuklear, sebagai respons terhadap kerusakan jaringan merupakan tanda inflamasi [9-11,20].

Histologi hati dievaluasi dengan pewarnaan HE, pengamatan mikroskopik preparat HE hati tikus yang diberikan Na CMC 1 % + CCl_4 1 ml/kg BB ditunjukkan pada Gambar 1.

Salah satu indikator utama kerusakan hepatoseluler yang disebabkan oleh stres oksidatif dan paparan hepatotoksikan adalah degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, yang ditunjukkan pada **Gambar 1** sebagai pembengkakan sel dengan vakuolisasi sitoplasma yang mirip dengan butiran air pada jaringan hati. Perubahan ini menunjukkan cedera sel reversibel yang disebabkan oleh gangguan homeostasis membran dan keseimbangan ion intraseluler [1,2]. Selain itu, nekrosis ditandai dengan perubahan pada inti sel yang tidak lagi berwarna, pucat, atau hilang, yang menunjukkan kematian sel irreversibel yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif dan peroksidasi lipid membran [2-4].

Respon inflamasi terhadap kerusakan hati ditunjukkan oleh infiltrasi sel-sel inflamasi di sekitar area nekrosis. Ini adalah ciri khas dari model kerusakan hati akibat CCl_4 dan terkait dengan aktivasi mediator oksidatif dan sitokin proinflamasi [3,5-7]. Salah satu kriteria utama untuk menilai histopatologi hati hewan uji adalah menilai perubahan tersebut secara mikroskopik [9-11].



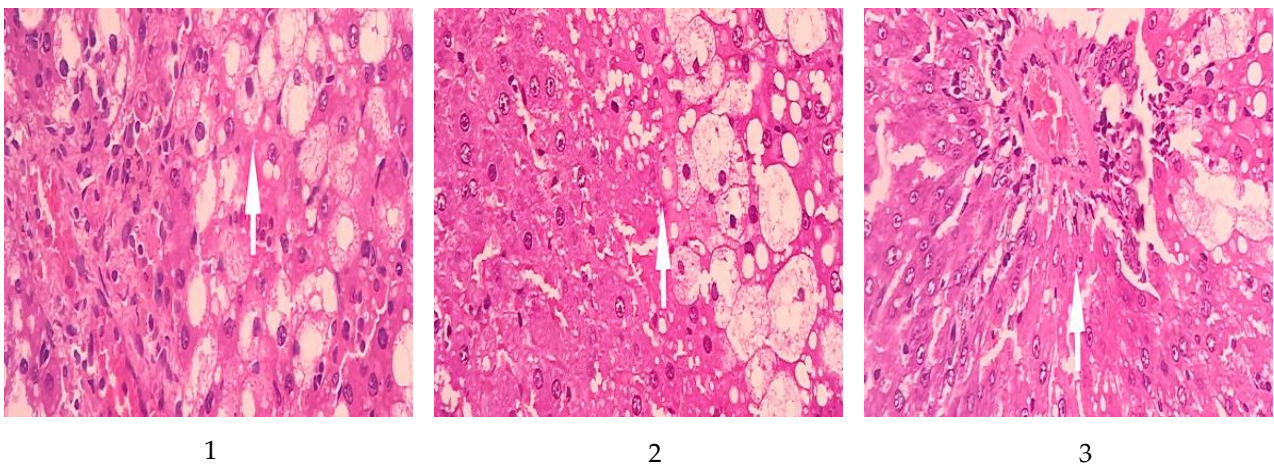
Gambar 1. Pengaruh Na CMC 1 % + CCl_4 1 ml/kg BB terhadap kerusakan hati tikus (HE, 10x40): (1) degenerasi hidropik; (2) nekrosis; (3) inflamasi.

Sebagai kontrol negatif, kelompok Na CMC 1% menunjukkan tanda patologi seperti degenerasi hidropik yang luas, nekrosis, dan infiltrasi inflamasi tanpa adanya tanda perbaikan jaringan. Tidak ada tanda-tanda penurunan tingkat kerusakan sel hati. Na CMC 1% tidak mampu mencegah kerusakan hati yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) karena bertindak sebagai vehikulum inert dan tidak memiliki aktivitas hepatoprotektif [2,4,6].

Karbon tetraklorida membentuk radikal bebas triklorometil, yang menyebabkan peroksidasi lipid, disfungsi membran, dan nekrosis hepatosit yang parah [1-4,6]. Kerusakan hati menjadi sangat parah dan tidak terkontrol jika tidak ada agen pelindung seperti ekstrak tanaman atau silymarin [4,7,12-15]. Selain itu, penelitian ini menunjukkan sifat hepatotoksik CCl_4 pada model hewan serta manfaat pemberian obat hepatoprotektif berbasis fitokimia [16-19].

Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa pada kelompok kontrol negatif Na CMC 1%, kerusakan hati yang signifikan disebabkan induksi CCl_4 terjadi tanpa perbaikan struktur jaringan. Ini menunjukkan betapa pentingnya pemberian agen hepatoprotektif dalam model cedera hati eksperimental [2,4,17-19].

Histologi hati dievaluasi dengan pewarnaan HE, pengamatan mikroskopik preparat HE hati tikus yang diberikan Silymarin 100 mg/kg BB + CCl_4 1 ml/kg BB ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh Silymarin 100 mg/KgBB + CCl_4 1 ml/kg BB terhadap kerusakan hati tikus (HE, 10x40): (1) degenerasi hidropik; (2) nekrosis; (3) inflamasi.

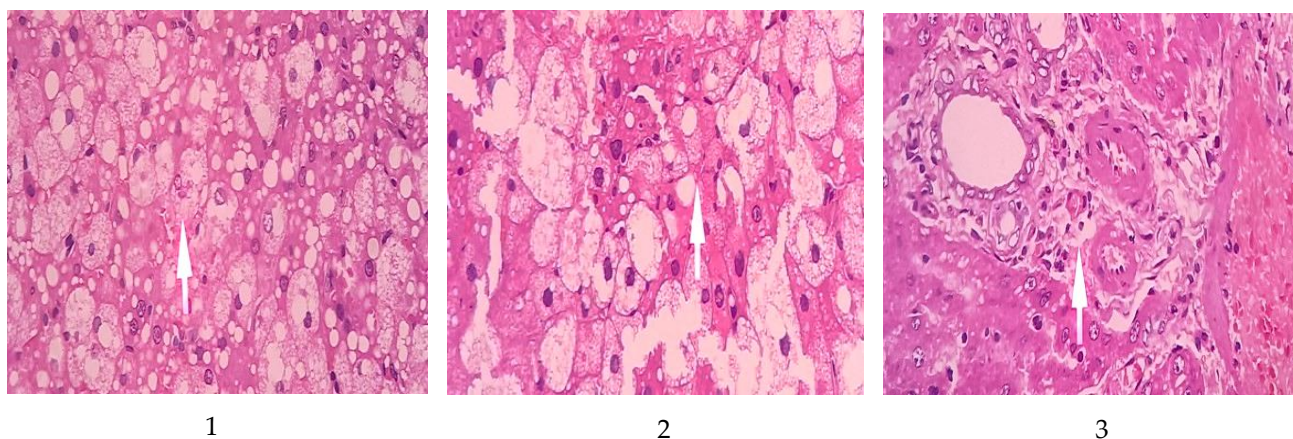
Gambar 2 menunjukkan sejumlah tanda patologi hati, termasuk degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, yang merupakan indikator utama kerusakan jaringan hati [9-11,20]. Akibat gangguan homeostasis ion dan cairan intraseluler, degenerasi hidropik terlihat sebagai vakuolisasi sitoplasma [20]. Perubahan inti sel seperti piknosis, karioreksis, dan kariolisis serta hilangnya batas sel yang jelas adalah tanda nekrosis [20]. Infiltrasi sel inflamasi di sekitar area nekrosis menunjukkan reaksi inflamasi terhadap kerusakan hepatoseluler [7,10].

Model induksi karbon tetraklorida (CCl_4) banyak digunakan sebagai model standar kerusakan hati eksperimental karena diketahui menyebabkan stres oksidatif, pembentukan radikal bebas, peroksidasi lipid, dan nekrosis hepatosit [1,2,6,21].

Sebagai kontrol positif, silymarin menunjukkan sifat hepatoprotektif dengan mengurangi tingkat degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi. Aktivitas antioksidan dan antiinflamasi, penghambatan peroksidasi lipid, dan stabilisasi membran sel hati adalah semua faktor yang berkontribusi pada efek perlindungan ini [3,4,7,12].

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa silymarin dan senyawa flavonoid tumbuhan dapat mengurangi kerusakan hati yang disebabkan oleh CCl_4 dengan mengontrol stres oksidatif dan jalur inflamasi. Oleh karena itu, temuan ini mendukung dalam meningkatkan histopatologi kelompok pasien yang menerima perawatan hepatoprotektor [3,8,13,15].

Histologi hati dievaluasi dengan pewarnaan HE, pengamatan mikroskopik preparat HE hati tikus yang diberikan EEDM 50 mg/kg BB + CCl_4 1 ml/kg BB ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh EEDM 50 mg/KgBB + CCl_4 1 ml/kg BB terhadap kerusakan hati tikus (HE, 10x40): (1) degenerasi hidropik; (2) nekrosis; (3) inflamasi.

Gambar 3 menunjukkan sejumlah tanda patologi hati, termasuk degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, yang menunjukkan kerusakan hati [9-11,20]. Degenerasi hidropik tampaknya merupakan vakuolisasi sitoplasma karena gangguan keseimbangan cairan intraseluler pada hepatosit yang mengalami cedera hati [20]. Sebagai bentuk kematian sel yang irreversibel, nekrosis ditandai dengan fragmentasi inti sel (karioreksis), piknosis, dan kariolisis [20]. Sel-sel inflamasi yang mengisi area nekrosis menunjukkan reaksi peradangan terhadap kerusakan jaringan hati [7,10].

Stres oksidatif, peroksidasi lipid, dan nekrosis hepatosit diketahui terjadi karena pembentukan radikal bebas yang reaktif dengan model kerusakan hati yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl_4) [1,2,6,21].

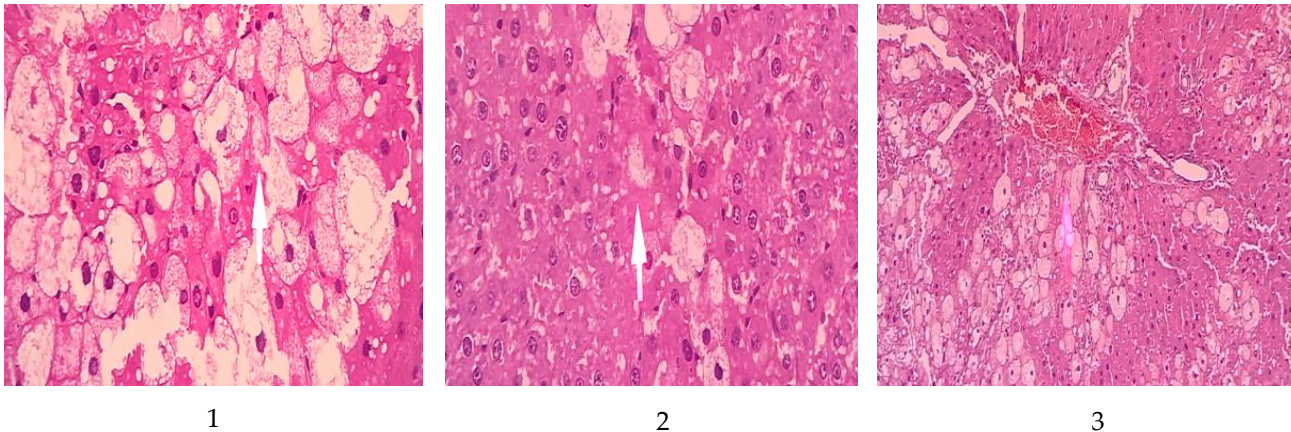
Gambaran histopatologi kelompok EEDM dengan dosis 50 mg/kg BB masih menunjukkan tingkat kerusakan yang relatif besar, yang menunjukkan bahwa efek proteksi yang dihasilkan belum optimal. Secara literatur, efek hepatoprotektif ekstrak tumbuhan biasanya bergantung pada dosis, karena peningkatan dosis akan meningkatkan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi serta menurunkan skor kerusakan jaringan [3,8,12,15,17-19]. Oleh karena itu, dosis 50 mg/kg BB lebih rendah melindungi hati dari kerusakan hati akibat CCl_4 daripada dosis yang lebih tinggi.

Histologi hati dievaluasi dengan pewarnaan HE, pengamatan mikroskopik preparat HE hati tikus yang diberikan EEDM 100 mg/kg BB + CCl_4 1 ml/kg BB ditunjukkan pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan sejumlah tanda patologi hati, termasuk degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, yang semuanya menunjukkan kerusakan hati [9-11,20]. Pada gambar pertama, degenerasi hidropik terlihat dalam bentuk vakuolisasi sitoplasma yang terbentuk sebagai akibat dari akumulasi cairan intraseluler sebagai akibat dari cedera hati [20]. Selain itu, terdapat tanda-tanda nekrosis yang ditunjukkan oleh piknosis, kariolisis, karioreksis, dan fragmentasi inti sel [9-11,20]. Proses inflamasi ditunjukkan oleh akumulasi sel mononuklear di area lesi, yang ditunjukkan oleh infiltrasi sel inflamasi di sekitar area nekrosis [7,10].

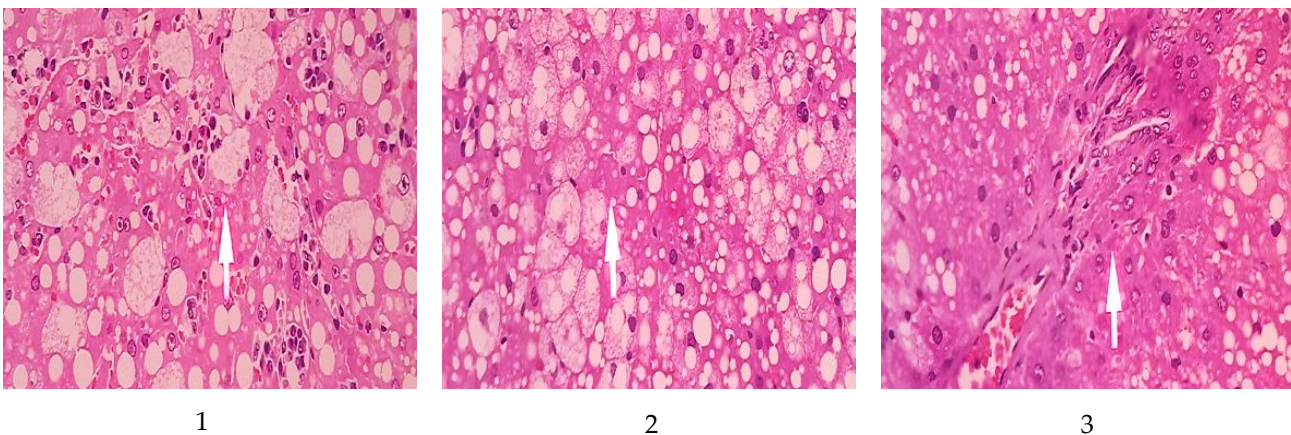
Ketiga gambar tersebut sejalan dengan pola kerusakan hati yang disebabkan oleh induksi karbon tetraklorida (CCl_4), yang berfungsi melalui pembentukan radikal bebas reaktif dan peroksidasi lipid membran hepatosit [1,2,6,21]. Kelompok yang menggunakan EEDM dengan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan

peningkatan perbaikan struktur jaringan, tetapi hasilnya belum sebaik pada dosis yang lebih tinggi. Dosis tersebut berkontribusi pada aktivitas hepatoprotektifnya. Dalam literatur, peningkatan dosis meningkatkan kemampuan antioksidan dan antiinflamasi, yang mengakibatkan penurunan tingkat nekrosis dan degenerasi sel [3,8,12,15,19].



Gambar 4. Pengaruh EEDM 100 mg/KgBB+ CCl₄ 1 ml/kg BB terhadap kerusakan hati tikus (HE, 10x40): (1) degenerasi hidropik; (2) nekrosis; (3) inflamasi.

Histologi hati dievaluasi dengan pewarnaan HE, pengamatan mikroskopik preparat HE hati tikus yang diberikan EEDM 200 mg/KgBB + CCl₄ 1 ml/kg BB ditunjukkan pada Gambar 5.



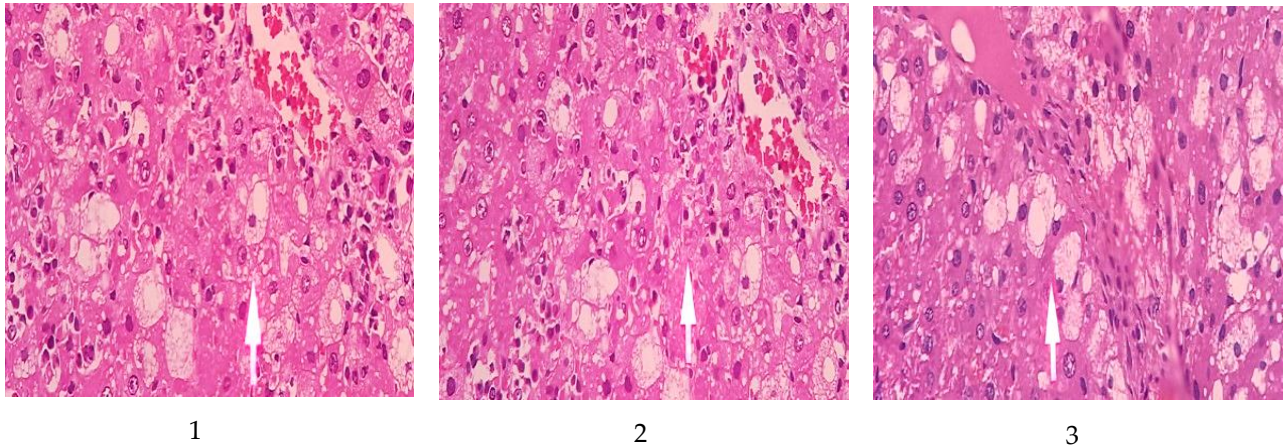
Gambar 5. Pengaruh EEDM 200 mg/KgBB + CCl₄ 1 ml/kg BB terhadap kerusakan hati tikus (HE, 10x40): (1) degenerasi hidropik; (2) nekrosis; (3) inflamasi.

Gambar 5 di atas menunjukkan sejumlah tanda patologi hati, termasuk degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, yang semuanya menunjukkan kerusakan hati [9-11,20]. Pada gambar pertama, degenerasi hidropik terlihat dalam bentuk vakuolisasi sitoplasma yang menyerupai rongga karena akumulasi cairan intraseluler sebagai reaksi terhadap cedera toksik [20]. Selain itu, ada tanda-tanda nekrosis yang ditunjukkan oleh inti sel mengkerut (piknosis), yang terlihat lebih padat dan berwarna lebih gelap, dan disertai dengan karioreksis (fragmentasi inti) [9-11,20]. Proses inflamasi ditunjukkan oleh infiltrasi sel-sel inflamasi di sekitar area nekrosis, yang dapat dilihat melalui mikroskop sebagai akumulasi sel inflamasi di area lesi [7,10].

Ketiga gambar tersebut sesuai dengan pola kerusakan hati yang disebabkan oleh induksi karbon tetraklorida (CCl₄) melalui pembentukan radikal bebas yang reaktif dan peroksidasi lipid membran hepatosit [1,2,6,21]. Dosis 200 mg/kgBB EEDM mampu memperbaiki struktur jaringan hati, tetapi tidak seefektif dosis 400 mg/kgBB. Secara literatur, efek hepatoprotektif tanaman obat bergantung pada dosis, dengan peningkatan dosis dikaitkan dengan peningkatan kapasitas antioksidan dan antiinflamasi, yang memungkinkan untuk mengurangi degenerasi, nekrosis, dan infiltrasi inflamasi dengan lebih baik [3,8,12,15, 19].

Histologi hati dievaluasi dengan pewarnaan HE, pengamatan mikroskopik preparat HE hati tikus yang diberikan EEDM 400 mg/KgBB + CCl₄ 1 ml/kg BB ditunjukkan pada Gambar 6.

Gambar 6 menunjukkan sejumlah tanda patologi hati, termasuk degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, yang semuanya menunjukkan kerusakan hati [9-11,20]. Pada gambar pertama, degenerasi hidropik terlihat pada sel hati melalui akumulasi cairan intraseluler sebagai reaksi terhadap cedera toksik dan gangguan fungsi membran sel [20]. Selain itu, infiltrasi sel inflamasi di sekitar area nekrosis menunjukkan reaksi inflamasi jaringan hati terhadap toksikan, yang ditunjukkan oleh perubahan inti sel menjadi mengkerut atau piknosis, yang tampak lebih padat dan berwarna lebih gelap, dan dapat berkembang menjadi fragmentasi inti dan lisis inti sel [9-11,20]. Respon inflamasi jaringan hati terhadap paparan toksikan ditunjukkan oleh infiltrasi sel inflamasi di sekitar area nekrosis; akumulasi sel radang pada area lesi dapat dilihat secara mikroskopik [7,10].



Gambar 6. Pengaruh EEDM 400 mg/kgBB + CCl₄ 1 ml/kg BB terhadap kerusakan hati tikus (HE, 10x40): (1) degenerasi hidropik; (2) nekrosis; (3) inflamasi.

Ketika karbon tetraklorida (CCl₄) diinduksi, enzim sitokrom P450 mengubahnya menjadi radikal bebas triklorometil dan triklorometil peroksil, yang menyebabkan stres oksidatif, peroksidasi lipid, dan kerusakan membran hepatosit [1,2,6,21]. Kerusakan oksidatif ini juga bertanggung jawab atas nekrosis, degenerasi sel, dan aktivasi jalur inflamasi di jaringan hati [1,4,5]. Gambaran histopatologi yang lebih baik setelah perlakuan EEDM, terutama pada dosis 400 mg/kgBB, menunjukkan bahwa perawatan ini berhasil mencegah kerusakan jaringan hati. Dengan mengurangi derajat degenerasi hidropik, nekrosis, dan infiltrasi inflamasi, ekstrak mungkin memiliki kemampuan untuk melakukan tindakan hepatoprotektif melalui mekanisme antioksidan dan antiinflamasi. Menangkap radikal bebas, mengurangi peroksidasi lipid, dan mengurangi respon inflamasi hepatik adalah kemampuan dari senyawa aktif yang banyak ditemukan di genus *Artocarpus*, termasuk flavonoid dan polifenol [3,8,12,13, 16]. Berbagai studi eksperimental, termasuk kelompok *Moraceae*, juga menunjukkan efek proteksi berbasis tanaman terhadap model kerusakan hati akibat CCl₄ [15, 17-19].

Skor histopatologi hati tikus dari berbagai efek perlakuan terhadap kerusakan hati tikus yang diinduksi (CCl₄) ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Skor Histopatologi Hati Tikus

Kelompok Perlakuan	Degenerasi Hidropik	Nekrosis	Inflamasi
Na CMC 1% + CCl ₄	3	3	3
Silymarin 100 mg/kg BB + CCl ₄	1	1	1
EEDM 50 mg/kg BB + CCl ₄	3	2	3
EEDM 100 mg/kg BB + CCl ₄	2	2	2
EEDM 200 mg/kg BB + CCl ₄	2	1	2
EEDM 400 mg/kg BB + CCl ₄	2	1	1

Keterangan:

Skor 0= Normal/ Tidak ada

Skor 1 = Fokal (Ringan)

Skor 2 = Multifokal (Sedang)

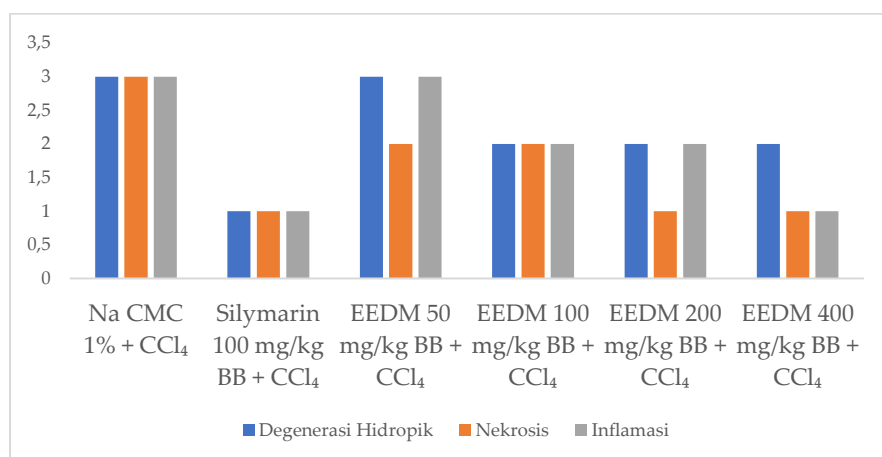
Skor 3 = Difus (Berat)

Tabel 1 menunjukkan skor histopatologi hati tikus untuk berbagai efek perlakuan terhadap kerusakan hati yang diinduksi CCl₄. Hasil skoring histopatologi hati tikus setelah induksi karbon tetraklorida (CCl₄) dan

pemberian ekstrak etanol dari daun mobe ditunjukkan pada Tabel 1. Degenerasi hidropik, nekrosis hepatosit, dan infiltrasi sel inflamasi diamati dengan skor setengah kuantitatif dari 0 hingga 3 [10-11]. Dalam toksikologi eksperimental, pendekatan skoring histopatologi ini umum digunakan untuk mengukur tingkat kerusakan dan perbaikan jaringan hati [9,10].

Kelompok kontrol negatif (Na CMC 1% + CCl₄) memiliki skor maksimum (skor 3) pada semua parameter histopatologi yang menunjukkan kerusakan hati yang parah, termasuk degenerasi sel, nekrosis luas, dan infiltrasi inflamasi intens. Stres oksidatif, peroksidasi lipid membran, disfungsi organel, dan kematian hepatosit adalah hasil dari biotransformasi CCl₄ oleh sistem sitokrom P450 menjadi radikal bebas triklorometil [1,2,6,21]. Cedera hepatoseluler yang disebabkan oleh toksikan kimia memiliki karakteristik morfologi seperti degenerasi hidropik, piknosis inti, karioreksis, dan area nekrosis [2,20]. Namun, pada seluruh parameter histopatologi, kelompok kontrol positif yang diberi silymarin 100 mg/kg BB menunjukkan skor kerusakan menjadi kategori ringan. Ini menunjukkan perlindungan struktur jaringan hati. Efek ini menunjukkan bahwa silymarin memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi, mampu menstabilkan membran sel dan meningkatkan kapasitas regenerasi hepatosit [21].

Dengan peningkatan dosis ekstrak etanol daun mobe (EEDM), skor histopatologi turun. Dosis 200 dan 400 mg/kg BB menunjukkan perbaikan jaringan hati yang paling nyata, dan kelompok kontrol positif hampir sama. Kandungan bahan fenolik dan flavonoid mungkin bertanggung jawab atas efek perlindungan ini, karena mereka berfungsi sebagai penangkap radikal bebas, penghambat peroksidasi lipid, dan modulator respon inflamasi [1,3,7,12,14]. Senyawa aktif tumbuhan juga ditunjukkan dalam berbagai penelitian dalam menekan paparan CCl₄ pada hati melalui mekanisme antioksidan dan hepatoprotektif [4,5,8,13,15]. Grafik hasil pemeriksaan dan skoring histopatologi hati tikus ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil Pemeriksaan dan Skoring Histopatologi Hati tikus

Gambar 7 menunjukkan bahwa penilaian semikuantitatif dilakukan dengan menggunakan sistem skoring 0–3, yang didasarkan pada luas dan distribusi lesi jaringan pada beberapa lapang pandang [9,10]. Kelompok kontrol negatif (Na CMC 1% + CCl₄) memiliki skor tertinggi pada semua parameter, menunjukkan degenerasi hidropik difus, nekrosis luas, dan infiltrasi inflamasi intens dalam hati. Studi ini mengikuti mekanisme toksisitas CCl₄ yang diaktifasi oleh enzim sitokrom P450 menjadi radikal triklorometil, yang menyebabkan peroksidasi lipid membran hepatosit [1,2,6]. Secara mikroskopik, preparat HE kelompok CCl₄ tanpa terapi menunjukkan vakuolisasi sitoplasma luas, penyusunan susunan hepatosit, inti piknotik hingga lisis, dan infiltrasi sel radang difus [1,2,6,9]. Pada kelompok EEDM dosis 400 mg/kg BB, tampak penurunan vakuolisasi, area nekrosis lebih terbatas dan infiltrasi inflamasi lebih ringan. Struktur hepatosit tampak lebih teratur dibanding kontrol negatif. Efek ini kemungkinan berkaitan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada genus *Artocarpus* yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi [12-16].

Flavonoid dan senyawa polifenol diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat melalui kemampuan menetralkan radikal bebas, menghambat peroksidasi lipid membran, serta mengatur jalur respon inflamasi pada model cedera hati akibat induksi CCl₄ [3,8,12–14]. Mekanisme tersebut berkontribusi terhadap penurunan kerusakan hepatoseluler dan mendukung proses pemulihan struktur jaringan hati. Berbagai kajian tanaman obat juga menunjukkan bahwa aktivitas hepatoprotektif umumnya berkaitan erat dengan kemampuan antioksidan dalam menekan stres oksidatif [2,5,15,17].

Secara keseluruhan, temuan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mobe (EEDM) melindungi hati dari kerusakan yang diinduksi CCl₄. Efek perlindungan meningkat dengan dosis, seperti yang ditunjukkan oleh parameter histopatologi dan biokimia yang lebih baik. Kandungan flavonoid dan senyawa fenolik bertanggung jawab atas aktivitas ini. Flavonoid dan senyawa fenolik melakukan fungsi antioksidan dan antiinflamasi dengan mengurangi stres oksidatif dan respons inflamasi jaringan hati [1-3, 12-16, 19].

Kesimpulan

Studi ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mobe (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) memiliki aktivitas yang melindungi hati terhadap kerusakan hati yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄) pada tikus. Induksi CCl₄ menyebabkan cedera hepatoseluler dengan degenerasi hidropik, nekrosis, dan infiltrasi sel inflamasi pada kelompok kontrol negatif, dengan tingkat kerusakan yang tinggi. Seiring peningkatan dosis, ekstrak etanol daun mobe (EEDM) menunjukkan kemampuan untuk memperbaiki gambaran histopatologi hati secara bertahap. Dosis 200 dan 400 mg/kg BB menunjukkan efek perlindungan paling nyata, yang ditunjukkan dengan penurunan skor degenerasi hidropik, nekrosis, dan inflamasi, serta perbaikan jaringan hati yang mendekati kelompok kontrol positif (silymarin). Dosis 50 dan 100 mg/kg BB juga menunjukkan efek perlindungan, tetapi tingkat perbaikannya belum optimal dibandingkan dengan dosis yang lebih tinggi. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mobe dapat digunakan sebagai alternatif hepatoprotektor alami dengan dosis terbaik 400 mg/kg BB.

Pernyataan Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan publikasi artikel penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sumatera Utara dan Institut Kesehatan Helvetia atas penyediaan fasilitas penelitian dan dukungan laboratorium dalam penelitian mandiri ini.

Referensi

- [1] Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, et al. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(4):1423. doi:10.3390/ijms21041423
- [2] Ahmad R, Hussain A, Ahmad N. Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: Mechanisms and protective role of medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2021;268:113588. doi:10.1016/j.jep.2020.113588
- [3] Alkreathy HM, Khan RA, Khan MR, Sahreen S. Protective effects of flavonoids against oxidative liver damage induced by CCl₄. *Biomed Pharmacother.* 2020;129:110473. doi:10.1016/j.biopha.2020.110473
- [4] Abdel-Daim MM, Abdeen A, El-Ghoneimy A. Hepatoprotective effects of natural antioxidants against carbon tetrachloride-induced liver injury: A review. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27(10):10541–56. doi:10.1007/s11356-019-07519-3
- [5] El-Khadragy M, Alolayan EM, Metwally DM, Abdel Moneim AE. Hepatoprotective role of plant-derived antioxidants against CCl₄ toxicity. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1423504. doi:10.1155/2020/1423504
- [6] Liu Y, Ren T, Yang Y. Mechanisms of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and protective strategies. *Front Pharmacol.* 2022;13:912345. doi:10.3389/fphar.2022.912345
- [7] Jang YJ, Kim JY, Kim YS. Antioxidant and anti-inflammatory mechanisms of plant extracts in CCl₄-induced liver injury. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(9):1431. doi:10.3390/antiox10091431
- [8] Singh D, Cho WC. Phytochemicals as modulators of oxidative stress in liver injury. *Molecules.* 2020;25(24):5853. doi:10.3390/molecules25245853
- [9] Badria FA, Zidan OA. Histopathological evaluation of hepatoprotective agents in experimental animals. *Toxicol Rep.* 2021;8:1176–84. doi:10.1016/j.toxrep.2021.06.023
- [10] He Q, Zhang C, Wang L, Wang Y. Histopathological scoring systems in experimental liver injury: A

- critical review. *Exp Toxicol Pathol.* 2020;72(4):213–21. doi:10.1016/j.etp.2020.03.002
- [11] Kumar S, Pandey AK, Razzaque MS. Histopathological assessment of liver injury and repair in toxicological studies. *J Appl Toxicol.* 2020;40(9):1162–73. doi:10.1002/jat.3972
- [12] Islam MS, Rahman MM, Sultana S. Flavonoids as hepatoprotective agents: Experimental and clinical evidence. *Phytother Res.* 2022;36(5):1905–23. doi:10.1002/ptr.7422
- [13] Mishra S, Sharma A. Protective role of polyphenols against experimental liver injury. *Biomed Pharmacother.* 2023;158:114146. doi:10.1016/j.biopha.2022.114146
- [14] Sharma A, Kaur G, Singh B. Flavonoids as natural hepatoprotective agents: A histopathological perspective. *Toxicol Mech Methods.* 2021;31(5):331–41. doi:10.1080/15376516.2020.1868923
- [15] Rahman MM, Islam MA, Hossain MS. Hepatoprotective effects of medicinal plant extracts against chemical-induced liver damage. *Clin Phytosci.* 2022;8(1):52. doi:10.1186/s40816-022-00336-4
- [16] Ghosh D, Konishi T. Bioactive compounds from *Artocarpus* species and their pharmacological potential. *J Food Biochem.* 2021;45(2):e13609. doi:10.1111/jfbc.13609
- [17] Nugroho AE, Riyanto S, Pramono S. Potensi hepatoprotektor tanaman obat Indonesia: Tinjauan berbasis bukti eksperimental. *J Farm Indones.* 2021;18(3):175–188.
- [18] Wahyuni TS, Putra DP, Sari RK. Efek hepatoprotektif ekstrak daun tanaman Moraceae pada tikus yang diinduksi CCl₄. *J Ilmu Kefarm Indones.* 2023;21(2):89–98.
- [19] Lubis MA, Dalimunthe A, Sitorus P, Satria D. Hepatoprotective effects of ethanol extract of morbe leaves (*Artocarpus lacucha* Buch-Ham.) against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Int J Ecophysiology.* 2024;6(2). doi:10.32734/ijoe.v6i2.17505
- [20] Robbins SL, Cotran RS. *Pathologic Basis of Disease.* 10th ed. Elsevier; 2021.
- [21] Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 6th ed. Oxford: Oxford University Press; 2022.