Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah *p-ISSN 2656-5021*
Volume 9 Nomor 3 Halaman 461-471 April 2024 *e-ISSN 2657-1579*

ANALISIS EFEK EKSTRAK KULIT LIMAU KUIT (*Citrus amblycarpa* Hassk) TERHADAP SEL INFLAMASI PADA HEPAR TIKUS YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK

Lena Rosida[a], Dewi Indah Noviana Pratiwi[b], Roselina Panghiyangani[c], Juliyatin Putri Utami[d], Nasrul Idhafi[e], M. Febriansyah[e], Andi Azizah Maulidia Budiarman[e]

[a]Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran ULM Banjarmasin, [b]Departemen Patologi Klinik dan Laboratorium Medis Fakultas Kedokteran ULM, [c]Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran dan Program Studi Ilmu Kedokteran Program Doktor ULM, [d]Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi ULM, Banjarmasin, [e]Mahasiswa Program Studi Kedokteran Program Sarjana FK ULM, Banjarmasin

Email korespondensi: lrosida@ulm.ac.id

ABSTRAK

Diet tinggi lemak dapat menyebabkan obesitas. Obesitas menyebabkan peningkatan asam lemak bebas sehingga terjadi akumulasi trigliserida di hepar. Keadaan ini dapat menginduksi adhesi molekul kemoatraktan dan merekrut monosit sehingga terjadi inflamasi. Limau Kuit merupakan jeruk khas Kalimantan yang memiliki aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antiinflamasi karena mengandung senyawa fenolik flavanon (hesperidin, neohesperidin, narirutin, dan naringin) dan flavon terpolimetoksilasi (nobiletin, sinensetin, tangeretin). Penelitian bertujuan menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit Limau Kuit terhadap sel inflamasi hepar tikus yang diberi diet tinggi lemak. Rancangan penelitian post test with control group design dengan 6 kelompok perlakuan K I diberi pakan standar + akuades, K II diberi diet tinggi lemak + akuades, K III diberi diet tinggi lemak + suspensi orlistat, K IV diberi diet tinggi lemak + ekstrak 200 mg/kgBB, K V diberi diet tinggi lemak + ekstrak 300 mg/kgBB, K VI diberi diet tinggi lemak + ekstrak 400 mg/kgBB. Setelah 6 minggu perlakuan, sampel hepar diambil untuk pembuatan preparat histologi dengan pewarnaan HE. Inflamasi hepar dinilai dengan menghitung jumlah sel inflamasi pada 10 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x. Data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dianalisis menggunakan Anova pada tarap kepercayaan 95%. Hasil penelitian mendapatkan jumlah sel inflamasi pada KI = 1458, KII = 1306, KIII = 1270, KIV = 1897, KV = 1407, dan KVI = 1155, dengan hasil p = 0,646 (p>0,05). Kesimpulan penelitian ini adalah tidak terdapat pengaruh yang bermakna pemberian ekstrak kulit Limau Kuit terhadap jumlah sel inflamasi pada hepar tikus yang diberi diet tinggi lemak.

Kata kunci: Limau Kuit, sel inflamasi, diet tinggi lemak.

PENDAHULUAN

Permasalahan dihadapi Indonesia adalah masalah gizi ganda, yaitu masalah gizi kurang dan gizi lebih. Perubahan pola makan yang bergeser ke pola makan tinggi karbohidrat, tinggi lemak dan rendah serat, ditambah dengan berkurangnya aktivitas fisik menyebabkan terjadinya gizi lebih.Kelebihan energi yang dikonsumsi akan disimpan di dalam tubuh dalam bentuk lemak sehingga terjadilah kegemukan atau obesitas (Kristina dkk., 2015; Higginbotham, 2015). Angka kejadian obesitas di

Kalimantan Selatan pada tahun 2018 sebesar 19,52% pada golongan dewasa usia > 18 tahun (Riskesdas, 2018). Hal ini dikarenakan pola hidup masyarakat Kalimantan Selatan, khususnya di kota besar seperti Banjarmasin yang menyukai makan di luar rumah atau istilah lokalnya adalah "mewarung". Kebiasaan masyarakat ini menjadi salah satu pemicu tingginya angka kejadian penyakit tidak menular di Kalimantan Selatan.

Obesitas dapat meningkatkan prevalensi berbagai penyakit seperti diabetes, dislipidemia, hipertensi dan penyakit kardiovaskuler (Sandjaja dan Sudikno, 2005; Kasim dkk., 2012; Gómez-Hernández *et. al*., 2016). Akumulasi lemak pada obesitas bersifat proinflamasi dan terjadi resistensi insulin sehingga menyebabkan gangguan metabolisme (Hurt *et al*, 2011; Stankov *et. al*., 2012; Sattar *et. al*., 2020). Akumulasi lemak juga menyebabkan peningkatan pelepasan asam lemak bebas (ALB) sehingga terjadi peningkatan hidrolisis trigliserida (Kankaanpa¨ a¨ *et al*., 2006), yang berakibat terjadinya akumulasi trigliserida di hepar (Sanyal 2005 dalam Kasim dkk., 2012). Akumulasi trigliserida di hepar akan menginduksi adhesi molekul kemoatraktan sehingga terjadi inflamasi dan stres oksidatif (Duwaerts and Maher, 2019).

Inflamasi merupakan serangkaian proses biologis non-spesifik sebagai respon terhadap masuknya benda asing, kerusakan jaringan, ataupun keduanya (Sherwood, 2016). Selama proses inflamasi berlangsung, terjadi reaksi vaskular dimana cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih (leukosit), dan mediator kimia berkumpul pada tempat jaringan untuk menetralkan dan menghilangkan agen-agen berbahaya, serta untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Inflamasi terbagi menjadi dua pola dasar yaitu inflamasi akut dan inflamasi kronik (Kumar *et. al*., 2018). Inflamasi akut ditandai dengan adanya aktivitas neturofil sebagai mediator sel utama sedangkan inflamasi kronik merupakan bentuk perkembangan dari inflamasi akut yang ditandai dengan infiltrasi oleh sel mononuklear seperti makrofag, limfosit, dan sel plasma (Hammer and McPhee, 2014; Oktarianda dkk., 2018).

Kalimantan Selatan memiliki tanaman jeruk yang khas dan tidak ditemukan di daerah lain yaitu tanaman Limau Kuit. Jeruk ini memiliki kemiripan dengan jeruk purut. Permukaan buah berkerut-kerut tetapi tidak kasar seperti buah limau purut. Tanaman jeruk memiliki bahan aktif yang penting bagi kesehatan antara lain yaitu vitamin C, flavonoid, karotenoid, limonoid, dan mineral (Devy dkk., 2010). Uji fitokimia Limau Kuit yang dilakukan oleh Irwan dkk. (2017) menemukan bahwa ekstrak etanol dan n-heksana dari kulit Limau Kuit mengandung alkaloid, saponin, steroid, triterpedoid, tannin, dan flavonoid.

Senyawa fenolik utama yang terkandung dalam kulit buah jeruk adalah flavanon (hesperidin, neohesperidin, narirutin, dan naringin) dan flavon terpolimetoksilasi (nobiletin, sinensetin, tangeretin).Kandungan senyawa fenolik dari kulit buah jeruk menyebabkan munculnya banyak aktivitas farmakologi seperti antioksidan, anti-inflamasi, anti-kanker, anti-proliferasi, anti-virus, dan

anti agregasi platelet (Rafiq *et al*, 2018, Koolaji et al, 2020; Priani dan Fakih, 2021). Beberapa penelitian baik in vivo dan in vitro membuktikan bahwa di dalam kandungan sari jeruk terdapat multipel komponen yang dapat berperan dalam penghambatan akumulasi lemak, seperti penelitian Montalbano *et. al*. (2019) yang membuktikan kandungan ekstrak flavonoid pada sari jeruk dapat berperan sebagai antiobesitas dan memiliki aktivitas lipolitik.

Flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dan fragilitas sel (Sandhar *et. al*., 2011; Hossain *et. al*., 2016). Terjadi penurunan kadar COX-2, ICAM-1 dan TNF-a pada jaringan adiposa tikus model obesitas yang diterapi menggunakan ekstrak kulit jeruk tinggi flavonoid (Gosslau *et. al*., 2018). Selain itu, Selain itu, penelitian juga menemukan bahwa ekstrak air dari C. amblycarpa mengandung fenolik, quercetin, rutin, dan gamma (γ)-asam aminobutirat (GABA), yang dapat menghambat *angiotensin converting enzyme* (Kusumawati *et al*, 2021).

Penelitian ini merupakan langkah awal untuk meneliti potensi Limau Kuit sebagai jeruk khas Kalimantan Selatan untuk menjadi kandidat obat antiobesitas, yang sejalan dengan peta jalan pengembangan riset ULM. Karena obesitas dapat menyebabkan inflamasi pada organ hepar, maka dirancang penelitian ini untuk menganalisis adanya efek pemberian ekstrak kulit Limau Kuit terhadap inflamasi pada organ hepar tikus yang diberi diet tinggi lemak dengan melihat sel-sel inflamasi pada sediaan histologi.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian adalah *true experimental design* dengan *post test with control group design* menggunakan 6 kelompok perlakuan. Variabel bebas adalah ekstrak kulit Limau Kuit pada konsentrasi 200, 300 dan 400 mg/kgBB menggunakan pelarut etanol 70%, sedangkan variabel terikat adalah inflamasi hepar yaitu jumlah sel inflamasi yang dihitung dari preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE), menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x yang terhubung dengan software optilap terhadap 10 lapang pandang (Taek dkk., 2020). Penelitian dilaksanakan di Balai Veteriner Banjarbaru dan laboratorium Histologi FK ULM.

Alat yang digunakan adalah kandang tikus, alat bedah minor, alat-alat untuk processing jaringan, kamera, tissue lensa, tissue, sarung tangan, blender, slide objek, pipet plastik, mikroskop cahaya, perangkat optilap, dan seperangkat computer dengan software SPSS dan Microsoft Office. Bahan yang digunakan adalah kulit buah jeruk Limau Kuit (*Citrus amblycarpa* Hassk), tikus galur Sprague-Dawley dewasa (*Rattus novergicus*) dengan berat-badan minimal 200 g, pakan standar BR2, pakan *Hi-Pro-Vite* CP511B Pokphand, kuning telur bebek, krosvet, tepung terigu, jagung giling, etanol 70%, orlistat, akuades, bahan-bahan untuk pembuatan preparat histologi, bahan-bahan untuk pewarnaan HE, dan ketamine.

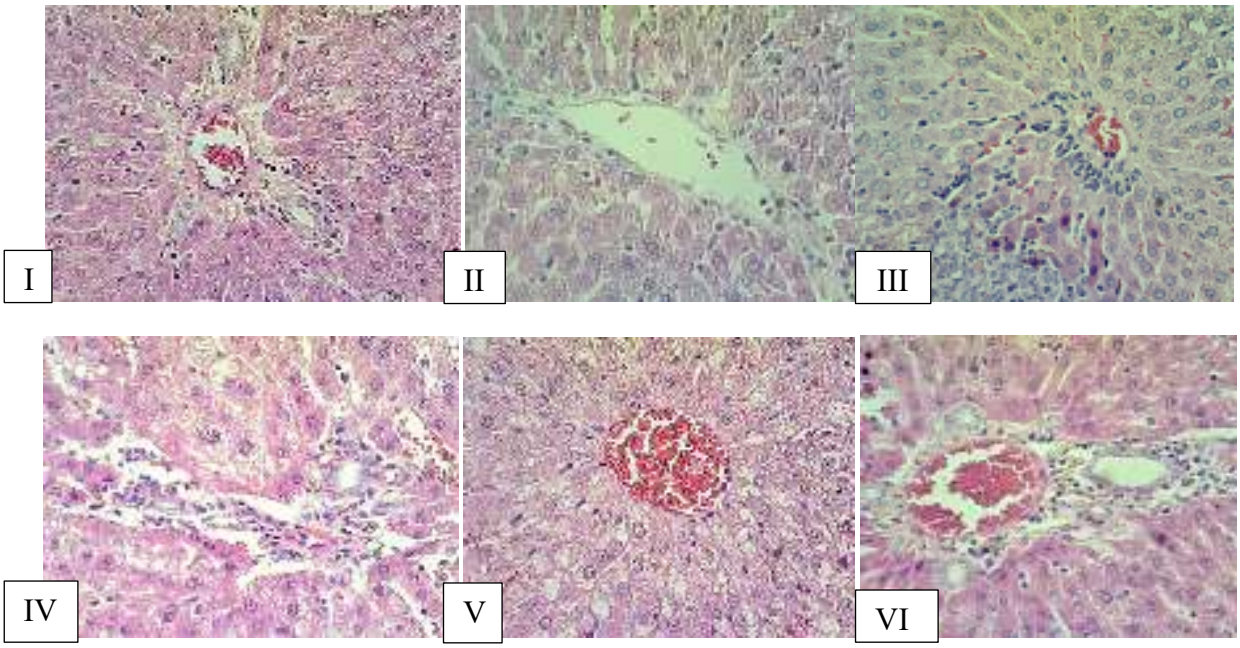
Prosedur penelitian dimulai dengan aklimatisasi tikus 1 minggu, kemudian dikelompokkan menjadi kelompok yang diberi diet standard + akuades (K I) dan kelompok yang diberi diet tinggi lemak. Tikus yang diberi diet tinggi lemak dan dinyatakan obesitas dengan kriteria mengalami peningkatan BB $\geq$ 20% dari BB semula (Li Q *et.al*., 2019) kemudian dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu K II diberi diet tinggi lemak + akuades, K III diberi diet tinggi lemak + suspensi orlistat, K IV diberi diet tinggi lemak + ekstrak 200 mg/kgBB, K V diberi diet tinggi lemak + ekstrak 300 mg/kgBB, K VI diberi diet tinggi lemak + ekstrak 400 mg/kgBB. Perlakuan ini dilakukan selama 6 minggu. Pada akhir perlakuan, tikus dipuasakan selama 12 jam sebelum terminasi menggunakan ketamin. Sampel hepar diambil kemudian dimasukkan dalam larutan fiksatif formalin 10%. Selanjutnya hepar diproses untuk pembuatan preparat histologi dengan ketebalan pemotongan sebesar 4 μm, kemudian diwarnai dengan pewarnaan HE (Yustika dkk., 2013).

Data yang didapatkan terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dianalisis menggunakan Anova pada tarap kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini memperlihatkan gambaran histologi hepar kelompok tikus perlakuan dan jumlah sel inflamasi. Gambaran histologi hepar kelompok perlakuan tampak pada Gambar 1. Sel inflamasi yang dihitung adalah jumlah sel inflamasi yang berada di sekitar vena sentralis atau vena interlobularis hepar, sebanyak 10 buah pada perbesaran mikroskop 400 kali, seperti tampak pada Tabel 1.



Gambar 1 Gambaran Histologi Hepar Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus

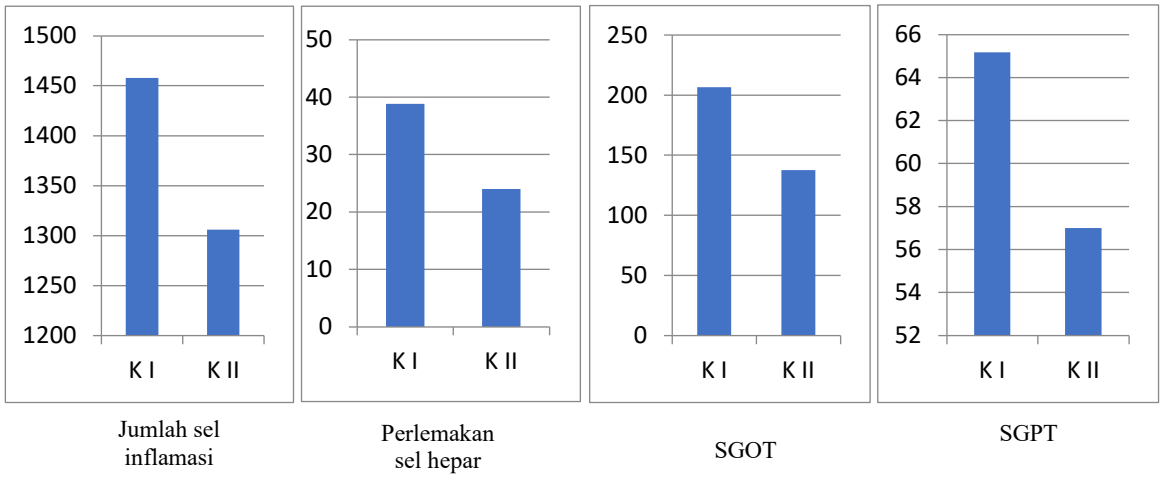
Tabel 1 Jumlah Sel Inflamasi pada Hepar Tikus (*Rattus novergicus*) Jantan yang diberi Perlakuan

Kelompok	Jumlah Sel Inflamasi	p
I	1.458	0,646
II	1.306	
III	1.270	
IV	1.897	
V	1.407	
VI	1.155	

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa jumlah sel inflamasi pada semua kelompok perlakuan terdapat perbedaan, walaupun secara statistik anova tidak bermakna (p = 0,646). Jumlah sel inflamasi pada kelompok II yang diberi diet tinggi lemak lebih rendah dari kelompok I yang diberi diet standar. Di antara kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak, tampak bahwa jumlah sel inflamasi tertinggi adalah pada kelompok IV (1.897 sel), yaitu kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dan ekstrak kulit Limau Kuit 200 mg/kgBB, sedangkan yang terendah adalah kelompok VI (1.155 sel) yaitu kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dan ekstrak kulit Limau Kuit 400 mg/kgBB.

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan jumlah sel inflamasi pada kelompok tikus KII yang diberi perlakuan diet tinggi lemak dan aquades lebih rendah dibanding kelompok tikus yang diberi diet standar (KI), walaupun secara statistik tidak bermakna. Hal ini sejalan dengan pemeriksaan kadar SGOT dan SGPT yang lebih rendah pada kelompok II (SGOT 137,50 $\pm$ 41,29 µl, SGPT 57,00 $\pm$ 12,03 µl) dibandingkan dengan kelompok I (SGOT 206,50 $\pm$ 70,37 µl dan SGPT 65,17 $\pm$ 14,78 µl) seperti tampak pada Gambar 2. (Rosida dkk., 2022). Demikian pula rerata jumlah sel hepar yang mengalami perlemakan pada kelompok II (24,00$\pm$ 21,46) lebih rendah dari kelompok I (38,83 $\pm$ 35,63). Namun pada penelitian Rosida dkk (2022) ini perlemakan hepar diamati dari preparat yang diwarnai dengan HE, sehingga ketelitian identifikasi droplet lemak lebih kecil dibandingkan dengan pewarnaan oil red Ostaining, di mana lipid droplet berwarna merah (Sukkasem *et. al*., 2020)



Gambar 2 Perbandingan Jumlah Sel Inflamasi, Perlemakan Sel, Kadar SGOT dan SGPT pada Kelompok I dan Kelompok II

Adanya jumlah sel inflamasi yang lebih banyak pada kelompok I ini perlu diteliti lebih jauh lagi apakah ada faktor-faktor yang tidak bisa dikendalikan dan mampu menyebabkan jumlah sel inflamasi lebih banyak pada kelompok yang diberi diet pakan normal. Perbedaan hasil penelitian ini kemungkinan juga disebabkan adanya lokasi pengambilan sampel hepar yang berbeda, karena menurut Kaban (2019) biopsi hepar dengan penilaian histologi adalah standar emas untuk memperkirakan perbaikan steatosis, namun, biopsi hepar tidak dapat mengambil sampel anatomi yang persis sama lokasinya pada awal dan setelah pengobatan, serta antar setiap tikus sehingga pengamatan dapat bervariasi karena distribusi sel inflamasi yang berbeda.Kemungkinan lainnya adalah pada kelompok II sudah terjadi kerusakan hepar, dimana fase inflamasi sudah terlewati sehingga jumlah sel inflamasi lebih sedikit.

Beberapa penelitian juga mengungkapkan bahwa proses inflamasi dapat ditemui pada fase akut. Namun dengan berberpa proses kontrol yang terjadi di hepar, seperti enzim, atioksidan, mekanisme umpan balik metabolisme, metabolisme kolesterol dan lain-lain, maka jika kondisi dapat diatasi (kompensata) reaksi inflamasi pada hepar akan hilang dan jejas tidak ditemukan lagi. Jika jejas terus berlanjut, maka bisa terjadi perlemakan hepar. Hal ini sejalan dengan Subroto *et al*. (2019) dan Scapaticci *et. al*.(2021) yang mengatakan bahwa pemberian diet tinggi lemak jenuh dapat menyebabkan perlemakan hati non-alcoholic (NAFLD). Penyakit ini mencakup 4 tahap, yakni steatosis sederhana, non-alcoholic steatohepatitis, fibrosis dan sirosis, hingga penyakit hepar tahap akhir dan karsinoma hepatoseluler (Zhao and Saltiel, 2020).

Jumlah sel inflamasi pada kelompok III yang diberi orlistat, lebih sedikit dibandingkan dengan K II, K IV, dan K V, walaupun secara statistik tidak bermakna. Orlistat (*Xenical*®) merupakan obat yang bekerja sebagai inhibitor lipase dengan mengurangi penyerapan lemak. Hasil ini selaras dengan penelitian Douglas *et. al*. (2013) pada 94.695 pasien obesitas yang mengkonsumsi obat orlistat di

Inggris antara tahun 1999 dan 2011 menyimpulkan bahwa peradangan dan fibrosis heparpada pasien obesitas dengan NASH membaik setelah terapi dengan orlistat. Hal ini menunjukkan orlistat yang bekerja dalam inaktivasi lipase mencegah hidrolisis trigliserida, sehingga asam lemak bebas tidak diserap ke dalam hepar dan mencegah kerusakan hepar akibat perlemakan berlebih.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa pada penelitian ini jumlah sel inflamasi mengalami penurunan seiring bertambahnya dosis ekstrak kulit limau kuit yang diberikan. Jumlah sel inflamasi pada kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dan ekstrak kulit limau kuit 200 mg/KgBB (K IV)adalah 1.897 sel, pada kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dan ekstrakkulit limau kuit 300 mg/KgBB (K V) adalah 1.407 sel, dan pada kelompok tikus yang diberi diet tinggi lemak dan ekstrakkulit limau kuit 400 mg/KgBB (K VI) adalah 1.155 sel.

Hal ini dapat terjadi karena ekstrak kulit limau kuit memiliki senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antiobesitas dan lipid inhibitor sehingga dapat menurunkan berat badan akibat akumulasi lemak berlebih pada penderita obesitas. Ini didukung oleh penelitian Panghiyangani dkk. (2022) yang menunjukkan pemberian ekstrak kulit limau kuit berpengaruh signifikan terhadap penurunan berat badan tikus Wistar yang diberi diet tinggi lemak dengan p= 0,00 (p <0,05). Rerata berat badan kelompok tikus perlakuan ekstrak 300 mg/kg BB dan 400 mg/kgBB berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol yang tidak diberi ekstrak kulit limau kuit, tetapi rata-rata berat badan pada kelompok dosis 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Penelitian lain juga mendukung adanya kandungan aktif ekstrak kulit Limau Kuit yaitu secara in siliko memiliki interkasi pengikatan yang kuat dengan penanda obesitas (FTO, leptin dan resistin), sehingga dapat menurunkan obesitas yang sebagai penyebab meningkatnya trigliserida di hepar.

Desai *et. al*. (2008) menemukan bahwa pemberian diet tinggi kolesterol selama 3 minggu akan mengakibatkan peradangan pada tikus yang mengalami delesi beberapa protein trans membran. Namun jika delesi ini tidak terjadi atau terjadi hanya pada bebrapa jenis saja, maka kondisi ini juga tidak akan mengakibatkan infalmasi yang mengaibatkan gambaran hepatitis di hepar. Beberapa penelitian menyatakan bahwa peradangan hepar secara makro (histopatologi) jarang terjadi jika hanya dilakukan pemberian diet tinggi kolesterol, namun lebih sering dan cepat terjadi pada kondisi diet tinggi karbohidrat dan lemak (asam lemak). Kim *et al*. (2014) menyatakanbahwa diet tinggi kolesterol hanya akan menimbulkan peradangan hepar jika terjadi proses peradangan sistemik.

Inflamasi merupakan serangkaian proses biologis non-spesifik sebagai respon terhadap masuknya benda asing, kerusakan jaringan, ataupun keduanya (Sherwood, 2018). Selama proses inflamasi berlangsung, terjadi reaksi vaskular dimana cairan, elemen-elemen darah, leukosit, dan mediator kimia berkumpul pada tempat jaringan untuk menetralkan dan menghilangkan agen-agen berbahaya, serta untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Kumar *et. al*., 2018, Oktarianda dkk., 2018).

Berdasarkan studi literatur didapatkan mediator inflamasi pada hepar yang mengalami perlemakan seperti NF-kB, TNF-alfa, IL-6, JNK, dan adiponectin (Gou *et al.,* 2020; Fang *et al.*, 2021; Bednarz *et al.,* 2022).

Patofisiologi perlemakan hepar dipengaruhi oleh ketidakseimbangan antara sintesis dan β-oksidasi trigliserida dari asam lemak di hepar karena akumulasi asam lemak bebas (Sufyan dkk., 2019). Akumulasi lemak ditambah berkurangnya *AMP-activated protein kinase*memicu disfungsi mitokondria, stres pada retikulum endoplasma, dan stress oksidatif. Akibatnya produksi *reactive oxygen species* (ROS) meningkat, terjadi kerusakan jaringan, dan proses inflamasi. Dari sini terjadi aktivasi jalur NF-KB dan JNK. Aktivasi jalur ini meningkatkan produksi dan peningkatan ekspresi mediator inflamasi seperti CCL2. Produksi ROS mengaktivasi NLRP3. Proses kerusakan ini juga menarik leukosit ke jaringan hepar dan memicu produksi sitokin, kemokin, dan eicosanoid sehingga terjadi inflamasi hepar. Proses ini memicu diferensiasi makrofag yang meningkatkan produksi mediator dan proses inflamasi, serta meningkatkan produksi TGF-beta. Produksi TGF-beta ini memicu aktivasi *hepatic stellate cells* (HSC) yang memicu proses fibrosis hepar (Zhao and Saltiel, 2020; Loomba *et. al*., 2021).

Teori "two hits" digunakan untuk menjelaskan mekanisme terjadinya patogenesis NAFLD/NASH (Zhao and Saltiel, 2020).Hit pertama menjelaskan terjadinya akumulasi trigliserida sebagai droplet lemak di hepar (Hasan, 2014). Akumulasi droplet lemak di hepatosit ini memicu reaksi inflamasi hepar yang menandai hit kedua (Du *et. al.*, 2020). Pendapat lain mengatakan bahwa patofisiologi terjadinya kelainan ini adalah hipotesis 'multi-hit', yaitu kombinasi dari faktor genetik, lingkungan, dan gaya hidup (Buzzetti *et. al*., 2016; Sukkasem *et. al*., 2020).

Penelitian ini mengungkapkan variasi hasil dalam afinitas pengikatan dan jenis interaksi senyawa dengan protein-protein dalam mekanisme inflamasi hepar.Temuan ini mengindikasikan bahwa protein tersebut dapat menghambat inflamasi hepar yang disebabkan oleh penumpukan lemak, yang mencapai puncaknya pada situasi tertentu. Hal ini dapat memiliki implikasi penting dalam pengembangan strategi pengobatan untuk mengatasi masalah inflamasi hepar akibat lemak di masa depan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna pemberian ekstrak kulit Limau Kuit terhadap jumlah sel inflamasi pada hepar tikus yang diberi diet tinggi lemak ($p>0,05$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Lambung Mangkurat dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat yang telah memberikan kesempatan kepada tim peneliti untuk melaksanakan penelitian, kepada Kepala dan seluruh rekan Balai Veteriner Banjarbaru yang telah memberikan izin serta membantu kegiatan penelitian ini. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

DAFTAR PUSTAKA

Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).*Metab Clin Exper*. 2016;65(8):1038–1048.

Desai MS, Mariscalco MM, Tawil A,Vallejo JG and Smith CW. Atherogenic diet-induced hepatitis is partially dependent on murine TLR4. J. Leukoc. Biol. 2008,83: 1336–1344

Devy NF, Yulianti F, dan Andrini A, 2010. Kandungan Flavonoid dan Limonoid pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (Citrus mitis Blanco) dan Purut (Citrus hystrix Dc.). J. Hortikultura, 1: 360-367.

Duwaerts CC and Maher JJ, 2019.Macronutrients and the Adipose-Liver Axis in Obesity and Fatty Liver (Review). Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2019;7:749–761.

Gosslau A, Zachariah E, Shiming Li, Chi-Tang Ho, 2018. Effects of a Flavonoid-Enriched Orange Peel Extract Against Type 2 Diabetes in the Obese ZDF Rat Model. Food Science and Human Wellness, 7 (Issue 4): 244-251.

Hammer GD, McPhee SJ, editors. Pathophysiology of Disease an Introduction to Clinical Medicine. 7 th ed. New York: Mc Graw Hill; 2014

Hasan I. Perlemakan Hati Non Alkoholik. In: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF, editors. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. 6th ed. Jakarta: Interna; 2014. p. 2000–2006.

Higginbotham A, 2015. The complexity of obesity: beyond energy balance. In: William's essential of nutrition & diet therapy 11th Ed. Schlenker ED and Gilbert J (eds). St Louis Missouri: Elsevier Inc.p 344 – 357.

Hossain MK, Dayem AA, Han J, Yin Y, Kim K, Saha SK, Yang GM, Choi HY and Cho SG, 2016. Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids. Int. J. Mol. Sci. 17, 569; doi:10.3390/ijms17040569.

Hurt RT, Frazier TH, McClave SA, Kaplan LM, 2011. Obesity Epidemic: Overview, Pathophysiology, and the Intensive Care Unit Conundrum. Journal of Parenteral Enteral Nutrition, 35(5 suppl): 4–13.

Irwan A, Mustikasari K, Ariyani A, 2017. Pemeriksaan Pendahuluan Kimia Daun, Kulit dan Buah Limau Kuit: Jeruk Lokal Kalimantan Selatan. Sains dan Terapan Kimia, 11 (2): 71 – 79.

Kankaanpa¨ a¨ M, Lehto HR, Pa¨rkka¨ JP, Komu M, Viljanen A, Ferrannini E, Knuuti J, Nuutila P, Parkkola R. and Iozzo P, 2006. Myocardial triglyceride content and epicardial fat mass in human obesity: relationship to left ventricular function and serum free fatty acid levels. J. Clin. Endocrinol.Metab. 91 (issue 11): 4689 - 4695

Kasim S, Arief M, Sulaeman A, Widodo J, 2012. Hubungan Obesitas dan Hipertrigliseridemia dengan Risiko Perlemakan Hati pada Pasien di Makassar. Jurnal Farmasi Klinik Indonesia, 1 (4): 136 – 146.

Koolaji N, Shammugasamy B, Schindeler A, Dong Q, Dehghani F, Valtchev P., 2020.Citrus Peel Flavonoids as Potential Cancer Prevention Agents.Curr Dev Nutr. 4(5): 1 - 20

Kumar V, Abbas AK, Aster JC, et al. Robbins basic pathology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018

Kusumawati IGAW, Putra IMWA, Yogeswara IBA. In vitro ACE inhibitory activity and bioactive compounds of aqueous extract of Citrus amblycarpa. Trad Med J. 2021; 26(2): 118-122

Kristina, Pangaribuan L, Bisara D, 2015. Hubungan Index Massa Tubuh dengan Hipertensi pada Wanita Usia Subur (Analisis Data Riskesdas 2013). Indonesian Journal of Reproductive Health, 6 (2): 117 – 127.

Loomba R, Friedman SL, Shulman GI, 2021. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. Cell, 184:2537–2564.

Mescher AL, 2016. Junqueira's Basic Histology (Text and Atlas). New York: Mc Graw Hill.

Montalbano G, Mania M, Guerrera MC, Laurà R, Abbate F, Levanti M, Maugeri A, Germanà A, and Navarra M, 2019. Efects of a Flavonoid-Rich Extract from Citrus sinensis Juice on a Diet-Induced Obese Zebrafish. Int. J. Mol. Sci., 20 (5116): 1 - 17.

Oktarianda H, Adriatmoko W, Astuti P. Khasiat ekstrak buah markisa kuning (*P. edulis sims*) sebagai antiinflamasi dilihat dari jumlah monosit pada tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*) [skripsi]. Jember: Universitas Jember; 2018.

Priani SE dan Fakih TM.Studi interaksi molekular senyawa hesperidin dan nobiletin dari kulit buah jeruk terhadap enzim tyrosinase secara in silico.J Ilm Farm Farmasyifa. 2021; 4(1): 17-24.

Riskesdas, 2018.Laporan Provinsi Kalimantan Selatan Riset Kesehatan Dasar 2018.Balai Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI.

Rosida A, 2018. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. Berkala Kedokteran, 12 (1): 123-131.

Rafiq S, Rajkumari K, Sofi A., Nadia B, Fiza N, Gulzar AN, 2018. Citrus peel as a source of functional ingredient: A review, Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17(4): 351-358.

Sandhar HK, Kumar B, Prasher S, 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids.Internationale Pharmaceutica Sciencia. 1 (Issue 1):25-41

Sandjaja dan Sudikno, 2005.Prevalensi Gizi Lebih dan Obesitas Penduduk Dewasa di Indonesia. Gizi Indon, 31: 1 – 7.

Sattar N, McInnes IB, McMurray JJV, 2020. Obesity Is a Risk Factor for Severe COVID-19 Infection. Circulation, 142 (Issue 1): 4–6.

Scapaticci S, D'Adamo E, Mohn A, Chiarelli F, Giannini C, 2021. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obese Youth With Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. Front. Endocrinol, 12: 1 – 18

Sherwood L. Fisiologi manusia dari sel ke sistem. Ed 8. Jakarta: EGC; 2016

Stankov SV, 2012. Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-Inflammatory Strategies. The Open Inflammation Journal, 5(1): 1–9.

Stosch M, Portela RM and Varsakelis C, 2021. A roadmap to AI-driven in silico process development: bioprocessing 4.0 in practice. Current Opinion in Chemical Engineering, 33: 1-7.

Subroto DRT, Mariadi IK, Somayana G, Dwipayana IMP, 2019. Gambaran Perlemakan Hati Non-Alkoholik di Rsup Sanglah Denpasar Periode Tahun 2017-2018. E-Jurnal Medika, 8 (2): 1– 3

Sufyan DL, Dwi IA, Prijadi B, 2019. Pengaruh Pemberian Jus Terong Ungu terhadap Perlemakan Hati Tikus Wistar. Jurnal Ilmiah Kesehatan, 18 (2): 59 – 63

Sukkasem N , Chatuphonprasert W , Jarukamjorn K, 2020. Cytochrome P450 expression-associated multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in HepG2 cells. Trop J Pharm Res, 19(4): 707 – 714.

Zhao P and Saltiel AR. From overnutrition to liver injury: AMP-activated protein kinase in nonalcoholic fatty liver diseases. Journal of Biological Chemistry 2020;295:12279–12289.