

PENGARUH EKSTRAK KULIT LIMAU KUIT (*Citrus amblycarpa* Hassk) TERHADAP PERLEMAKAN HEPAR TIKUS (*Rattus norvegicus*) YANG DIBERI DIET TINGGI LEMAK

*THE EFFECT OF LIME PEEL EXTRACT (*Citrus amblycarpa* Hassk) ON HEPAR
 FATTENING OF RATS (*Rattus norvegicus*) FEED WITH A HIGH-FAT DIET*

Lena Rosida ^{1*}, Dewi Indah Noviana Pratiwi ², Roselina Panghiyangan³, Juliyatin Putri Utami⁴,
 Yolanda Sajjida Maghfirah⁵, Aysca Fakhira Amalia⁵

¹ Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran ULM, Banjarmasin,

² Departemen Patologi Klinik dan Laboratorium Medis Fakultas Kedokteran ULM,

³ Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran dan Program Studi Ilmu Kedokteran Program
 Doktor ULM Banjarmasin

⁴Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi ULM, Banjarmasin

⁵Mahasiswa Program Studi Kedokteran Program Sarjana FK ULM, Banjarmasin
 Jalan Veteran Sungai Bilu Kota Banjarmasin. Indonesia

*Authors Correspondence : lrosida@ulm.ac.id

ARTICLE INFO

Article history

Received: Mei 2023
 Accepted: Nov 2023
 Published Online :
 Dec 2023

Keywords:

High fat diet;
 Citrus
amblycarpa Hassk;
 fatty liver; *Rattus*
norvegicus;
 steatosis

ABSTRACT

Triglyceride accumulation in the liver can occur due to excessive high-fat diet, which can induce inflammation and oxidative stress in the liver. *Citrus amblycarpa* Hassk as a local plant in South Kalimantan has benefits in inhibiting the formation of excessive fat accumulation because the skin of *Citrus amblycarpa* Hassk contains alkaloids, saponins, triterpenoids, tannins, and flavonoids. This study aimed to analyze the effect of extract *Citrus amblycarpa* Hassk on fatty liver of rats (*Rattus norvegicus*) fed a high-fat diet. The research method is a true experimental design with a posttest with control group design with 6 groups. The treatment was given for 6 weeks. The results showed that the mean of fatty liver was KI 38.83 + 35.63, KII 24.00 + 21.46, KIII 20.40 + 13.90, KIV 42.40 + 11.93, KV 19.60 + 12.50, KVI 30.50 + 14.80, with $p = 0.447$. The conclusion of this study was that there was no significant difference in the administration of extract *Citrus amblycarpa* Hassk to fatty liver of *rattus norvegicus* which were fed a high fat diet ($p > 0.05$)

Kata kunci:

Diet tinggi
 lemak; Kulit
 jeruk Limau
 Kuit;
 Perlemakan
 hepar; *Rattus*
norvegicus;
 Steatosis

ABSTRAK

Akumulasi trigliserida di hepar dapat terjadi akibat diet tinggi lemak yang berlebihan, sehingga dapat menginduksi terjadi inflamasi dan stres oksidatif di hepar. Tanaman Limau Kuit (*Citrus amblycarpa* Hassk) sebagai tanaman lokal Kalimantan Selatan memiliki manfaat dalam menghambat pembentukan akumulasi lemak berlebihan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak kulit Limau Kuit (*Citrus amblycarpa* Hassk) terhadap perlemakan hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak. Metode penelitian adalah *true experimental design* dengan *posttest with control group design* dengan 6 kelompok. Perlakuan diberikan selama 6 minggu. Hasil penelitian menunjukkan rerata perlemakan hepar KI 38,83 ± 35,63, KII 24,00 ± 21,46, KIII 20,40 ± 13,90, KIV 42,40 ± 11,93, KV 19,60 ± 12,50, KVI 30,50 ± 14,80, dengan $p = 0,447$. Kesimpulan penelitian ini adalah tidak ada perbedaan yang bermakna dari pemberian ekstrak kulit Limau Kuit terhadap perlemakan tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi pakan tinggi lemak ($p > 0,05$).



PENDAHULUAN

Indonesia menghadapi masalah gizi ganda yaitu masalah gizi kurang dan gizi lebih. Gizi lebih disebabkan adanya perubahan pola makan yang bergeser menjadi tinggi karbohidrat, tinggi lemak dan rendah serat, ditambah dengan berkurangnya aktivitas fisik. Kelebihan energi yang dikonsumsi akan disimpan di dalam tubuh dalam bentuk lemak sehingga terjadilah kegemukan atau obesitas (1,2).

Obesitas menjadi masalah kesehatan masyarakat karena dapat meningkatkan prevalensi berbagai penyakit seperti diabetes, dislipidemia, hipertensi dan penyakit kardiovaskuler (3,4,5). Hal ini terjadi karena akumulasi lemak pada obesitas bersifat "proinflamasi" dan terjadi resistensi hormon insulin sehingga menyebabkan gangguan metabolisme (6,7,8). Akumulasi lemak juga dapat menyebabkan peningkatan pelepasan asam lemak bebas (ALB) sehingga terjadi peningkatan hidrolisis trigliserida (9). Trigliserida dapat terakumulasi di hepar jika terjadi peningkatan pembentukan dibanding yang dirubah (4). Keadaan ini menginduksi adhesi molekul kemoatraktan yang merekrut monosit sehingga terjadi inflamasi dan stres oksidatif. Semakin tinggi akumulasi lemak, maka akan semakin tinggi stres oksidatif pada hepar. Keadaan ini dapat menyebabkan terjadinya perlemakan hepar (10).

Perlemakan hepar adalah suatu kondisi patologis yang ditandai oleh akumulasi trigliserida di dalam hepatosit pada parenkim hepar. Perlemakan hepar mencakup spektrum penyakit hepar mulai dari steatosis sederhana hingga steatohepatitis nonalkohol dengan atau tanpa fibrosis (11). Perlemakan hepar secara histopatologis ditandai oleh adanya steatosis (12). Perlemakan hepar dapat mengganggu fungsi hepar yang dapat dilihat dengan pengukuran SGOT dan SGPT.

Angka kejadian obesitas di Kalimantan Selatan pada tahun 2018 sebesar 19,52% pada golongan dewasa usia > 18 tahun (13). 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 dicegah dengan upaya penghambatan akumulasi lemak. Penghambatan ini dapat memanfaatkan tanaman herbal sebagai upaya alternatif karena mudah ditemukan, murah dan mengangkat kearifan lokal. Kalimantan Selatan memiliki tanaman jeruk yang khas dan tidak ditemukan di daerah lain yaitu tanaman Limau Kuit (*Citrus amblycarpa* Hassk). 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 (14). Uji fitokimia Limau Kuit yang dilakukan oleh Irwan dkk menemukan bahwa ekstrak etanol dan n-heksana dari kulit Limau Kuit mengandung alkaloid, saponin, steroid, triterpedoid, tannin, dan flavonoid (15).

Flavonoid utama dalam jeruk ialah naringin, narirutin, dan hesperidin yang terdapat pada kulit buah, biji, dan pulp (14). 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.* tahun 2019 yang membuktikan kandungan ekstrak flavonoid pada sari jeruk dapat berperan sebagai antiobesitas dan memiliki aktivitas lipolitik (16). Flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dan fragilitas sel (17,18). Terjadi penurunan kadar COX-2, ICAM-1 dan TNF- α pada jaringan adiposa tikus model obesitas yang diterapi menggunakan ekstrak kulit jeruk tinggi flavonoid (19).

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. Telah ada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kandungan flavonoid dan minyak atsiri cukup tinggi pada kulit buah Limau Kuit sehingga berpotensi sebagai pengontrol nafsu makan dan melunturkan lemak. Namun, belum ada penelitian yang membuktikan pengaruhnya pada perlemakan dan fungsi hepar pada tikus model obesitas setelah diberikan ekstrak kulit Limau Kuit. Oleh karena itu, diperlukan studi terhadap perlemakan pada tikus yang diberi pakan tinggi lemak setelah pemberian ekstrak Limau Kuit.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian adalah *true experimental design* dengan *posttest with control group design* menggunakan sampel tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan yang dipilih dengan *simple random sampling*. Besar sampel dihitung berdasarkan rumus Federer. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu KI (diet standar + akuades), KII (diet tinggi lemak + akuades), KIII (diet tinggi lemak + orlistat), KIV (diet tinggi lemak + ekstrak kulit Limau Kuit 200 mg/KgBB), KV (diet tinggi lemak + ekstrak kulit Limau Kuit 300 mg/KgBB), dan KVI (diet tinggi lemak + ekstrak kulit Limau Kuit 400 mg/KgBB). Perlakuan diberikan selama 6 minggu. Perlemakan hepar dinilai dari jumlah sel hepar yang mengalami perlemakan pada 5 lapangan pandang pada preparat histologis dan perbesaran 400 x. Penelitian ini telah lulus uji etik penelitian oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat dengan nomor No.10/KEPK-FKULM/EC/II/2022.

Persiapan dan Pengelompokkan Hewan Coba

Tikus putih jantan (200-300 g) dipelihara di bawah suhu terkontrol (21-23°C), dalam kandang individual dan kelembaban rata-rata pada 50±5%, serta kondisi gelap terang masing-masing 12 jam. Semua tikus diadaptasi dengan pemberian pakan normal selama satu minggu, selanjutnya tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok secara acak.

Pemberian Diet Tinggi Lemak dan Perlakuan

Pembuatan ekstrak kulit Limau Kuit dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Pakan diet tinggi lemak terdiri dari campuran jagung giling, krosvet, pakan *Hi Pro-vite*, kuning telur itik, dan tepung terigu. Pemberian diet tinggi lemak dilakukan selama 6 minggu sampai berat badan tikus mencapai $\geq 20\%$ BB tikus normal. Kemudian, dilanjutkan dengan perlakuan pemberian ekstrak kulit Limau Kuit selama 6 minggu dengan cara disonde. Berat badan tikus

ditimbang setiap satu minggu sekali. Pada akhir perlakuan, tikus akan dipuasakan selama 12 jam, kemudian dianestesi menggunakan ketamin (0,2 cc) untuk selanjutnya dideterminasi dan diambil organ hepar.

Sampel hepar yang telah diperoleh segera dimasukkan ke dalam pot yang berisi formalin 10% kemudian dilakukan proses pembuatan preparat histologi yang diwarnai dengan HE. Perlemakan hepar dinilai dari jumlah sel hepar yang mengalami perlemakan pada 5 lapangan pandang dengan perbesaran 400 x di Laboratorium Histologi FK ULM.

Analisis Data

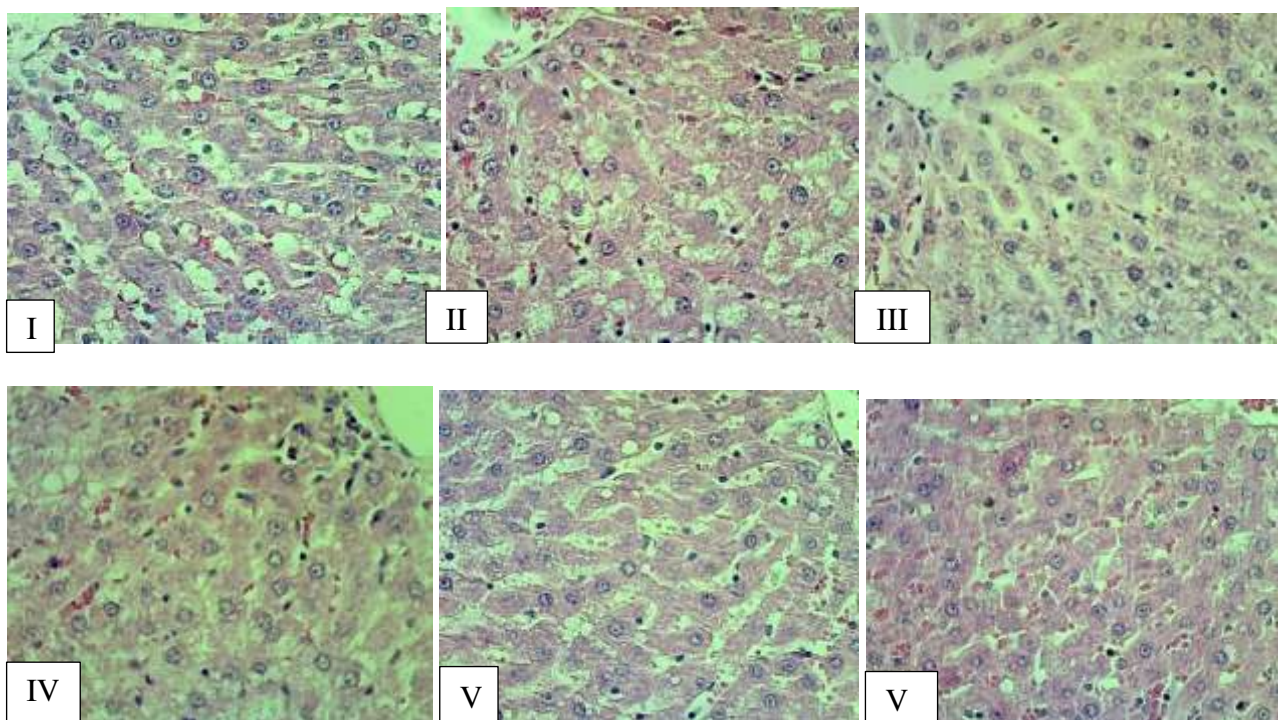
Uji normalitas data dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan Levene's test. Karena data terdistribusi normal dan tidak homogen, maka data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis test.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil perhitungan rerata perlemakan hepar masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 1. Hasil penelitian ini dilanjutkan dengan uji analisis statistik menggunakan metode uji beda rerata dari masing-masing kelompok dengan didahului uji normalitas data dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas ragam antar kelompok dengan *Levene's test*. Gambaran histologi pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 1.

Table 1. Rerata Perlemakan Hepar pada Masing-Masing Perlakuan Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan

Kelompok	Rerata \pm SD	p
I	38,83 \pm 35,63	0,447
II	24,00 \pm 21,46	
III	20,40 \pm 13,90	
IV	42,40 \pm 11,93	
V	19,60 \pm 12,50	
VI	30,50 \pm 14,80	



Gambar 1. Gambaran Histologi Hepar Masing-Masing Kelompok Perlakuan Tikus

Berdasarkan tabel 1. tampak bahwa rerata sel hepar yang mengalami perlemakan 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, terlihat bahwa rerata sel hepar yang mengalami perlemakan paling tinggi adalah pada kelompok IV ($42,40 \pm 11,93$), yaitu kelompok tikus yang diberi ekstrak kulit Limau Kuit 200 mg/kgBB. Sedangkan rerata sel hepar yang mengalami perlemakan paling rendah adalah pada kelompok V ($19,60 \pm 12,50$), yaitu kelompok yang diberi ekstrak kulit Limau Kuit 300 mg/kgBB. Perbedaan rerata sel hepar yang mengalami perlemakan pada semua kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) secara statistik tidak bermakna ($p = 0,447$ atau dengan kata lain pemberian ekstrak kulit Limau Kuit secara statistik tidak mempengaruhi perlemakan hepar).

PEMBAHASAN

Perlemakan hepar atau steatosis terjadi jika hepar mengandung berat lipid lebih dari 5%, sehingga terjadi lesi yang bersifat akut maupun kronis (20). Hasil penelitian ini menunjukkan nilai rerata perlemakan hepar 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 $137,50 \pm 41,29 \mu\text{L}$, SGPT $57,00 \pm 12,03 \mu\text{L}$) dibandingkan dengan kelompok I (SGOT $206,50 \pm 70,37 \mu\text{L}$ dan SGPT $65,17 \pm 14,78 \mu\text{L}$) (21).

Adanya rerata perlemakan yang lebih tinggi pada kelompok I ini perlu diteliti lebih jauh lagi apakah ada faktor-faktor yang tidak bisa dikendalikan dan mampu menyebabkan kerusakan pada hepar. Perbedaan hasil penelitian ini kemungkinan adanya lokasi pengambilan sampel hepar yang berbeda, karena menurut Kaban tahun 2019 biopsi hepar dengan penilaian histologi adalah standar emas untuk memperkirakan perbaikan steatosis, namun, biopsy hepar tidak dapat mengambil sampel anatomi yang persis sama lokasinya pada awal dan setelah pengobatan, serta antar setiap tikus sehingga pengamatan tingkat steatosis dapat bervariasi karena distribusi lemak hepar yang berbeda pengamatan ahli patologinya (12).

Rerata sel hepar yang mengalami perlemakan paling rendah adalah pada kelompok V ($19,60 \pm 12,50$), yaitu kelompok yang diberi ekstrak kulit Limau Kuit 300 mg/kgBB, hal ini menunjukan lebih rendah daripada kelompok yang diberikan orlistat (kelompok III), yang mana bisa berarti lebih baik karena perlemakkan sel heparnya lebih

sedikit. Kondisi ini kemungkinan disebabkan karena pemberian orlistat yang kurang lama waktunya, sehingga efek penurunan deposit lemak belum terlihat dan pada pemberian orlistat umumnya lebih jelas terlihat bila disertai dengan diet rendah lemak, namun pada penelitian ini tidak diikuti dengan diet rendah lemak. Ekstrak kulit Limau Kuit mengandung flavonoid yang memiliki mekanisme kerja yang sama seperti orlistat yaitu sebagai lipase inhibitor dalam mencegah terjadinya obesitas. Flavonoid juga memiliki kadar antioksidan tinggi yang berguna untuk mencegah pembentukan radikal bebas.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian Zhu et. al. tahun 2017. yang membandingkan skor histopatologi lemak hepar yang mendapatkan hasil bahwa terjadi peningkatan perlemakan hepar pada kelompok hewan yang diinduksi diet tinggi lemak. Skor ini berkurang secara nyata pada kelompok hewan yang diinduksi diet tinggi lemak dengan perlakuan vitamin D (22).

Meningkatnya perlemakan hepar pada tikus yang diberi diet tinggi lemak didasari oleh teori perlemakan hepar, yaitu jalur utama yang terlibat dalam perlemakan hepar adalah masuknya *free fatty acid* (FFA) dan akumulasi trigliserida (TG) dalam hepatosit, menciptakan lingkungan lipotoksik di dalam sel hepar yang mengganggu homeostasis lipid normal. Gangguan multi-mekanistik dari fungsi tubuh normal yang berbeda, seperti faktor metabolik, lingkungan, dan genetik, diyakini dapat menjadi penyebab atas perlemakan hepar (23).

Mekanisme patofisiologis dasar yang terlibat adalah ketidakseimbangan antara impor dan ekspor lemak ke dan dari hepar (24). Apabila terjadi ketidakseimbangan antara sintesa FFA dibanding mengeluarkannya sebagai VLDL, maka akan terjadi steatosis hepar. Akumulasi lemak di hepar juga akan meningkatkan senyawa radikal bebas berupa *reactive oxygen species* (ROS) yang akan menginduksi stres oksidatif dan memicu kerusakan mitokondria dan inflamasi kronik *low-grade* pada hepar sehingga mengakibatkan kerusakan sel mitokondria hepar. Selain itu, stress oksidatif jika berlanjut dapat menimbulkan lipotoksitas pada hepar yang kemudian akan mengaktifkan sel-sel stelata penyebab steatohepatitis dan fibrogenesis yang dapat

berkembang menjadi *Non Alcoholic Steata Hepatitis* (NASH) dan sirosis hepar (25).

Mekanisme patofisiologis yang menopang fenotipe individu normal dengan distribusi lemak tubuh bisa saja terganggu (obesitas visceral, perbedaan diferensiasi adiposit, dan pergantian lipid yang berubah), komposisi tubuh yang berubah (penurunan massa otot), genetik latar belakang dan perubahan epigenetik (26). Di antara berbagai jalur inflamasi yang dilaporkan, *JNK-activator protein* (AP-1) dan (IKK)-*nuclear* (NF- κ B) diyakini menjadi kontributor utama dalam perkembangan peradangan kronis selama perlemakan hepar (27). Hormon tiroid juga diketahui mengatur berbagai proses metabolisme yang mempengaruhi metabolisme karbohidrat, protein, lipid, glukosa, dan kolesterol sehingga berhubungan dengan perlemakan hepar.28 Sistem regulasi juga dapat bergantung pada vitamin D dari respons inflamasi hepar yang menunjukkan peran patogen langsung vitamin D dalam pengembangan dan keparahan perlemakan hepar kontribusi genetik dan epigenetik dinamis (29).

Penelitian ini juga untuk mengetahui efek orlistat sebagai obat antiobesitas dengan membandingkan rerata sel hepar yang mengalami perlemakan antara KIII dengan KII. Rerata sel hepar yang mengalami perlemakan pada kelompok tikus yang diberi orlistat (KIII) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tikus yang tidak diberi orlistat (KII), walaupun secara statistik tidak bermakna. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa Orlistat (Xenical®) merupakan obat yang bekerja sebagai inhibitor lipase dengan mengurangi penyerapan lemak (30). Dengan pemberian orlistat diharapkan penyerapan lemak berkurang dan akan mengurangi FFA di hepar, seperti penelitian yang dilakukan Ye et al tahun 2019 yang meneliti pengaruh orlistat terhadap pasien penderita NAFLD dengan obesitas dengan MRI. Setelah intervensi selama 6 bulan, secara signifikan penurunan yang lebih besar terhadap perlemakan hepar terjadi pada kelompok perlakuan orlistat dibandingkan dengan kelompok pengobatan rutin dilihat menurut MRI (-5.45% versus -1.96%, $p < 0.001$) (31).

Akumulasi lemak hepar yang berlebihan disebabkan oleh kelebihan penyerapan lipid dan lipogenesis *de novo* digabungkan dengan penurunan ekspor lipid atau oksidasi di hepar.

Pemberian diet tinggi lemak dengan FFA jenuh meningkatkan tingkat keparahan steatosis hepar pada manusia. Lipid yang meluap ke hepar berasal dari pelepasan asam lemak bebas (FFA) oleh jaringan adiposa perifer, terutama didorong oleh peningkatan total adipositas tubuh dan peningkatan laju pelepasan FFA. Pengobatan Orlistat secara signifikan mengurangi BMI (berbeda rata-rata = 1,97; $p = 0,02$) dan area lemak visceral di pasien dengan obesitas, oleh karena itu efektif menurunkan massa jaringan adiposa. Orlistat menghambat absorpsi lemak sebanyak 30 persen. Bukti ini mendukung gagasan bahwa orlistat, sebagai penghambat pengambilan lemak dari usus, juga akan bermanfaat dalam mencegah steatosis.²⁶

Namun, ada juga penelitian yang tidak sejalan dengan teori, yaitu studi klinis oleh Harrison et al yang mendapatkan hasil bahwa orlistat tidak ditemukan efektif dalam pengobatan steatohepatitis nonalkohol (NASA) pasien NAFLD obesitas di India. Pada bagian negara lain yang menilai orlistat dengan histopatologi menunjukkan bahwa terapi orlistat untuk 36 minggu tidak lebih unggul daripada modifikasi gaya hidup dalam mendorong perbaikan steatosis hepar pada pasien kulit putih. Hal ini didukung oleh temuan Harrison et al. yang telah mengetahui bahwa perkembangan obesitas serta efek anti-obesitas di bawah pengobatan orlistat tergantung pada sifat diet pasien (32).

Tabel 1 juga memperlihatkan bahwa rerata perlemakan hepar pada kelompok tikus yang diberi ekstrak kulit Limau Kuit 300 mg/KgBB (KV) lebih rendah dibanding kelompok tikus yang diberi ekstrak 200 mg/KgBB (KIV) dan 400 mg/KgBB (KVI), serta mendekati angka pada kelompok tikus yang diberi orlistat (KIII), namun secara statistik tidak bermakna. Hal ini dikarenakan flavonoid pada kulit Limau Kuit memiliki mekanisme kerja yang sama seperti orlistat yaitu sebagai lipase inhibitor dalam mencegah terjadinya obesitas. Flavonoid juga memiliki kadar antioksidan tinggi yang berguna untuk mencegah pembentukan radikal bebas (33). Hal ini berbeda dengan penelitian oleh Hidayat, (2019) yang meneliti histopatologis hepar pada tikus yang diinduksi diet tinggi lemak untuk melihat efek ekstrak kelopak bunga Rossella yang menunjukkan penurunan paling besar skor bengkak keruh pada efek ekstrak etanol kelopak rosella dosis 200 mg/KgBB/hr (34).

Dari penelitian ini dapat dikatakan bahwa ekstrak 200 mg/KgBB tidak efektif dan belum mencapai dosis optimal, sedangkan dosis 400 mg merupakan dosis yang toksik sehingga terdapat kenaikan pada rerata jumlah sel lemak hepar (34).

Untuk mendapatkan pemahaman yang komprehensif tentang pengaruh pemberian ekstrak kulit Limau Kuit terhadap hepar, maka perlu diteliti lebih lanjut tentang toksisitas terhadap hepar, dengan melihat struktur parenkim hepar, sinusoid, kongesti vena sentralis, sel radang, dan sel nekrosis. Selain itu, perlu juga diteliti tentang mediator-mediator inflamasi seperti TNF-alfa, dan IL-6, serta profil lipid dan kadar gula darah.

KESIMPULAN

Simpulan penelitian ini adalah pemberian ekstrak kulit Limau Kuit (*Citrus amblycarpa* Hassk) pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan dengan diet tinggi lemak menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p > 0,05$).

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, kami 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, Kalimantan Selatan 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, yang juga telah mengizinkan kami untuk menggunakan laboratorium, serta kami mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Biokimia dan Biomolekuler FK ULM Banjarbaru atas izin dan dukungan yang diberikan selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. 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*, Volume 6 (2), pp. 117-127

2. 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., pp. 344-357
3. Sandjaja, dan Sudikno., 2005. Prevalensi Gizi Lebih dan Obesitas Penduduk Dewasa di Indonesia. *Gizi Indon*, Volume 31, pp. 1-7
4. Kasim, S., Arief, M., Sulaeman, A., Widodo, J., 2012. Hubungan Obesitas dan Hipertrigliseridemia dengan Risiko Perlemakan Hepar pada Pasien di Makassar. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, Volume 1(4), pp. 136-146
5. Gómez-Hernández, A., Beneit, N., Díaz-Castroverde, S., and Escribano, Ó., 2016. Differential Role of Adipose Tissues in Obesity and Related Metabolic and Vascular Complications. *International Journal of Endocrinology*, Volume 2016, pp. 2-9
6. Hurt, R.T., Frazier, T.H., McClave, S.A., Kaplan, L.M., 2011. Obesity Epidemic: Overview, Pathophysiology, and the Intensive Care Unit Conundrum. *Journal of Parenteral Enteral Nutrition*, Volume 35(5 suppl), pp. 4-13
7. Stankov, S.V., 2012. Definition of Inflammation, Causes of Inflammation and Possible Anti-Inflammatory Strategies. *The Open Inflammation Journal*, Volume 5(1), pp. 1-9
8. Sattar, N., McInnes, I.B., McMurray, J.J.V., 2020. Obesity Is a Risk Factor for Severe COVID-19 Infection. *Circulation*, Volume 142 (Issue 1), pp. 4-6
9. Kankaanpa, M., Lehto, H.R., Parkka, J.P., Komu, M., Viljanen, A., Ferrannini, E., Knuuti, J., Nuutila, P., Parkkola, R., and Lozzo, P., 2006. Myocardial Triglyceride Content and Epicardial Fat Mass in Human Obesity: Relationship to Left Ventricular Function and Serum Free Fatty Acid Levels. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 91(11), pp. 4689-4695.
10. Duwaerts, C.C., and Maher, J.J., 2019. Macronutrients and the Adipose-Liver Axis in Obesity and Fatty Liver (Review). *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, Volume 7, pp. 749-761
11. Tiniakos, D.G., Vos, M.B., Brunt, E.M., 2010. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathology and Pathogenesis. *Annu Rev Pathol*, Volume 5, pp. 145-171
12. Kaban, K., dan Sunarti., 2019. Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa* Linn.) Menurunkan Penyakit Perlemakan Hepar Non-Alkoholik. *BioLink*, Volume 5(2), pp. 123-130
13. Riskesdas, 2018. Laporan Provinsi Kalimantan Selatan Riset Kesehatan Dasar 2018. Balai Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan RI
14. Devy, N.F., 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*, Volume 1, pp. 360-367
15. Irwan, A., Mustikasari, K., Ariyani, A., 2017. Pemeriksaan Pendahuluan Kimia Daun, Kulit dan Buah Limau Kuit: Jeruk Lokal Kalimantan Selatan. *Sains dan Terapan Kimia*, Volume 11(2), pp. 71-79
16. Montalbano, G., Mania, M., Guerrero, M.C., Laurà, R., Abbate, F., Levanti, M., Maugeri, A., Germanà, A., and Navarra, M., 2019. Effects of a Flavonoid-Rich Extract from *Citrus sinensis* Juice on a Diet-Induced Obese Zebrafish. *Int.J.Mol.Sci*, Volume 20 (5116), pp. 1-17
17. Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology Of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Volume 1 (Issue 1), pp. 25-41
18. Hossain, M.K., Dayem, A.A., Han, J., Yin, Y., Kim, K., Saha, S.K., Yang, G.M., Choi, H.Y and Cho, S.G., 2016. Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids. *International journal of molecular sciences*, Volume 17(4), pp. 1-20
19. Gossiau, 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*, Volume 7 (Issue 4), pp. 244-251
20. Mutia, M.S., 2021. *Ekstrak Kulit Jeruk Sunkist, Kajian Antioksidan bagi Kesehatan Hepar*. Medan, Unpri Press
21. Rosida, L., Pratiwi, D.I.N., Panghiyangani, R., Utami, J.P., Maghfirah, Y.S., Amalia, A.F., 2022. Semnas LB LPPM ULM 2022
22. Zhu, C.G., Liu, Y.X., Wang, H., Wang, B.P., Qu, H.Q., Wang, B.L., & Zhu, M., 2017. Active

- form of Vitamin D Ameliorates Non-Alcoholic Fatty Liver Disease by Alleviating Oxidative Stress in a High-Fat Diet Rat Model. *Endocrine journal*, Volume 64(7), pp. 663–673
23. Lonardo, A., Nascimbeni, F., Maurantonio, M., Marrazzo, A., Rinaldi, L., & Adinolfi, L.E., 2017. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Evolving paradigms. *World journal of Gastroenterology*, Volume 23(36), pp. 6571–6582
 24. Lonardo, A., Nascimbeni, F., Targher, G., Bernardi, M., Bonino, F., Bugianesi, E., Bellentani, S., 2017. AISF Position Paper on Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD): Updates and Future Directions. *Digestive and Liver Disease*, Volume 49(5), pp. 471–483
 25. Mandrekar, P., Ambade, A., Lim, A., Szabo, G., Catalano, D., 2011. An Essential Role for Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Alcoholic Liver Injury: Regulation of Proinflammatory Cytokines and Hepatic Steatosis in Mice. *Hepatology*, Volume 54(6), pp. 2185–2197
 26. Younes, R., Bugianesi, E., 2019. NASH in Lean Individuals. In *Seminars in Liver Disease*. Thieme Medical Publishers, Volume 39(1), pp. 86–95
 27. Rinaldi, L., Pafundi, P.C., Galiero, R., et al. 2021. Mechanisms of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in the Metabolic Syndrome. A narrative review. *Antioxidants (Basel)*, Volume 10(270), pp. 1–12
 28. Tahara, K., Akahane, T., Namisaki, T., Moriya, K., Kawaratani, H., Kaji, K., Yoshiji, H., 2020. Thyroid-Stimulating Hormone is an Independent Risk Factor of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *JGH Open*, Volume 4(3), pp. 400–404
 29. Eslam, M., Valenti, L., & Romeo, S., 2018. Genetics and Epigenetics of NAFLD and NASH: Clinical Impact. *Journal of hepatology*, Volume 68(2), pp. 268–279
 30. Murshed, M., Pham, A., Vithani, K., Salim, M., & Boyd, B.J., 2022. Controlling Drug Release by Introducing Lipase Inhibitor within A Lipid Formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 623(2022), pp. 1–8
 31. Ye, J., Wu, Y., Li, F., Wu, T., Shao, C., Lin, Y., & Zhong, B., 2019. Effect of Orlistat on Liver Fat Content in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease with Obesity: Assessment Using Magnetic Resonance Imaging-Derived Proton Density Fat Fraction. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, Volume 12, pp. 1–16
 32. Harrison, S.A., Fecht, W., Brunt, E.M., Neuschwander-Tetri, BA., 2009. Orlistat for Overweight Subjects with Nonalcoholic Steatohepatitis: A Randomized, Prospective Trial. *Hepatology*, Volume 49(1), pp. 80–86
 33. Huang, R., Zhang, Y., Shen, S., et al. 2020. Antioxidant and Pancreatic Lipase Inhibitory Effects of Flavonoids from Different Citrus Peel Extracts: An In Vitro Study. *Food Chemistry*, Volume 326(1), pp. 1–4
 34. Hidayat, M., Adhika, O. A., Tanuwijaya, F., Nugraha, A., & Hutagalung, R. B. 2019. Effective Dose of Rosella Calyx Extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) Against Liver Marker Enzymes and Liver Histopathological of High-Fat Feed-Induced Rats. *Journal of Medicine anHealth*, Volume 2(4), pp. 987–997