

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi *Methanyl Yellow*

Rizki Hanriko¹, Alif Fernanda Putra², Nisa Karima³

¹Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Dewasa ini, produk pangan yang beredar di pasaran banyak yang menggunakan bahan tambahan pangan (BTP). Namun, penggunaan BTP sering terjadi penyalahgunaan seperti *methanyl yellow*. *Methanyl yellow* dapat merusak jaringan tubuh seperti ginjal, otak, dan hepar. Untuk menghadapi kerusakan yang ditimbulkan oleh *methanyl yellow*, diperlukan suatu senyawa antioksidan seperti buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*). Dari uraian di atas, peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih yang diinduksi *methanyl yellow*. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dengan 20 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 4 ekor tikus. Kelompok penelitian antara lain: K1: hanya akuades; K2: *methanyl yellow* 3000 mg/kgBB; P1: ekstrak buah bakau hitam 3,75 mg/kgBB + *methanyl yellow* 3000 mg/kgBB; P2: ekstrak buah bakau hitam 7,5 mg/kgBB + *methanyl yellow* 3000 mg/kgBB; P3: ekstrak buah bakau hitam 15 mg/kgBB + *methanyl yellow* 3000 mg/kgBB. Uji analisis yang digunakan adalah *methanyl yellow* dengan *Post-hoc LSD*. Hasil yang didapatkan berupa terdapat pengaruh pemberian ekstrak buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *methanyl yellow* berupa penurunan rerata kerusakan sel hepar dibandingkan kelompok kontrol positif dengan dosis 3,75-15 mg/kgBB selama 30 hari

Kata Kunci: ekstrak buah bakau hitam, histopatologi hepar, *methanyl yellow*

Effects Of Black Mangrove Fruit Extract (*Rhizophora mucronata*) on Liver Histopathology of White Rat (*Rattus norvegicus*) Induced by Methanyl Yellow

Abstract

Nowadays, food products that circulating in many markets are using food additives (BTP). However, the application of BTP is often an misuse, like *methanyl yellow*. *Methanyl yellow* can damage body tissues such as the kidneys, brain, and liver. To deal with the damage caused by *methanyl yellow*, there is an antioxidant compound such as black mangrove fruit (*Rhizophora mucronata*). From the explanation above, researcher want to know the effect of administration of black mangrove fruit extract (*Rhizophora mucronata*) on the liver histopathology of white rat-induced *methanyl yellow*. The study used an experimental design with 20 male white rat (*Rattus norvegicus*) divided into 5 groups with each group amounting to 4 rats. The groups include: K1: Only aquades; K2: *methanyl Yellow* 3000 mg/kgBW; P1: Black Mangrove Fruit Extract 3.75 mg/kgBW + *methanyl Yellow* 3000 mg/kgBW; P2: Black Mangrove Extract 7.5 mg/kgBW + *methanyl Yellow* 3000 mg/kgBW; P3: Black Mangrove Fruit Extract 15 mg/kgBW + *methanyl Yellow* 3000 mg/kgWB. The analysis used was One Way Anova with the *Post-hoc LSD*. Results obtained is the effect of the extract of black mangroves (*Rhizophora mucronata*) on the description liver histopathology of white rat (*Rattus norvegicus*) induced by *methanyl yellow* in the form of reduction of hepatic cell damage compared to the positive control group at a dose of 3.75-15 mg/kgBB for 30 days.

Keywords: Black mangrove extract, histopathology hepar, *methanyl yellow*

Pendahuluan

Dewasa ini, produk pangan yang beredar di pasaran banyak yang menggunakan bahan tambahan pangan (BTP). Bahan tambahan pangan bertujuan untuk memengaruhi sifat dan bentuk pangan.¹ Namun, penggunaan BTP sering terjadi penyalahgunaan baik dari dosis yang tidak sesuai, maupun BTP yang tidak diizinkan. Salah satu zat yang sering disalahgunakan menjadi BTP adalah *methanyl yellow*.

Methanyl yellow merupakan pewarna sintetis yang digunakan untuk industri tekstil seperti kain, kertas, benang, dll. Namun, sering terjadi penyalahgunaan sebagai BTP untuk memberikan kesan kuning pada makanan, seperti mi, kerupuk, bakso, dll.² Berdasarkan penelitian pada sampel jajanan anak SD di Kec. Sukrame, Kota Bandar Lampung, didapatkan 3 dari 13 sampel positif mengandung *methanyl yellow*.³

Methanyl yellow dapat merusak jaringan tubuh seperti ginjal, otak, dan hepar.⁴ Kerusakan yang terjadi akibat *methanyl yellow* pada hepar berupa peradangan, degenerasi sitoplasma yang luas, piknosis nukleus, kerusakan sekitar vena sentralis, dan nekrosis.^{5,6,7}

Untuk menghadapi kerusakan yang ditimbulkan oleh *methanyl yellow*, diperlukan suatu senyawa tambahan bagi tubuh berupa antioksidan. Tanaman yang diketahui memiliki sifat antioksidan adalah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*).^{8,9} Ekstrak dari buah bakau hitam memiliki sifat antioksidan lebih baik dari vitamin C.⁹ Komponen aktif yang dimiliki buah bakau hitam seperti flavonoid, fenol, hidrokuinon, saponin, dan tanin, berperan penting dalam penangkapan radikal bebas.^{9,10,11}

Pemberian ekstrak buah bakau hitam mampu menurunkan kadar *aspartate aminotransferase* (AST) dan *alanine aminotransferase* (ALT) hepar tikus sebagai indikator kerusakan hepar.¹⁰ Penelitian ini juga didukung bahwa pemberian ekstrak dosis 7,5-15 mg/kgBB mampu bersifat imunostimulator pada hepar.¹¹

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih yang diinduksi *methanyl yellow*

Metode

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental. Sampel penelitian sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok berjumlah 4 ekor tikus putih. Kelompok tersebut antara lain: Kontrol negatif (K1) yang hanya diberi akuades tanpa diberi *methanyl yellow* dan ekstrak buah bakau hitam. Kontrol positif (K2) yang diberikan *methanyl yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB dosis tunggal peroral, tanpa diberikan ekstrak buah bakau hitam. Perlakuan 1 (P1) yang diberikan ekstrak buah bakau hitam dengan dosis 3,75 mg/kgBB dosis tunggal peroral, kemudian diberikan *methanyl yellow* dosis 3000 mg/kgBB. Perlakuan 2 (P2) yang diberikan ekstrak buah bakau hitam dosis 7,5 mg/kgBB dosis tunggal peroral, kemudian diberikan *methanyl yellow* dosis 3000 mg/kgBB. Perlakuan 3 (P3) yang diberikan ekstrak buah bakau hitam dosis 15 mg/kgBB dosis tunggal peroral, kemudian diberikan *methanyl yellow* dosis 3000 mg/kgBB. Pemberian intervensi dilakukan selama 30 hari pada setiap kelompok penelitian.^{6,11}

Prosedur penelitian diawali dengan adaptasi tikus penelitian selama 7 hari. Selama adaptasi, tikus diberi pakan dan minum *ad libitum*.

Buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) diambil dari kawasan pantai Pasir Sakti, Lampung Timur sebanyak ± 2 kg. Kemudian buah bakau hitam segar dicuci dengan air mengalir. Setelah itu, buah bakau hitam diambil bagian hipokotilnya dan dikupas dari kulit luarnya. Hipokotil buah bakau hitam tersebut selanjutnya dijemur hingga mengering dan digiling dengan mesin penggiling. Serbuk atau simplisia hasil penggilingan

selanjutnya akan digunakan untuk proses ekstraksi.

Simplisia buah bakau hitam diekstraksi dengan menggunakan etanol 95%. Perbandingan simplisia dengan etanol sebesar 1:2,5 (b/v). Sebanyak 1000 gr simplisia dimaserasi dengan etanol 95% selama 18-24 jam. Kemudian hasil maserasi disaring dengan kertas saring. Residu yang tersisa dimaserasi kembali dengan etanol 95% dengan perbandingan 1:2,5 selama 18-24 jam. Setelah itu disaring kembali dengan kertas saring. Filtrat buah bakau hitam yang terkumpul selanjutnya dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C selama 24 jam. Senyawa hasil evaporasi tersebut merupakan ekstrak buah bakau hitam yang siap digunakan. Dosis ekstrak buah bakau hitam yang digunakan dalam penelitian ini antara lain 3,75 mg/kgBB, 7,5 mg/kgBB, dan 15 mg/kgBB yang dilarutkan dalam 1 mL per 200 gr berat tikus.^{9,11}

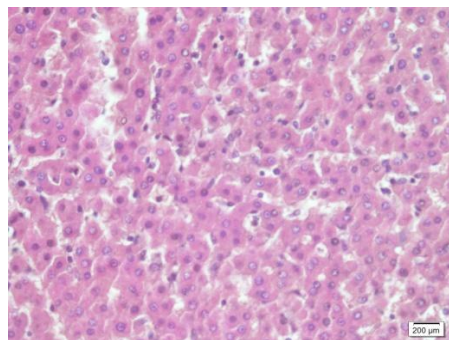
Senyawa induksi dalam penelitian ini adalah *methanyl yellow*. Serbuk *methanyl yellow* sebesar 3000 mg/kgBB dan dilarutkan dalam 1 mL per 200 gr berat tikus.⁶

Tikus penelitian yang telah diadaptasi selanjutnya dibagi menjadi 5 kelompok dengan metode *simple random sampling*. Intervensi yang dilakukan dengan menggunakan sonde peroral selama 30 hari. Pada hari ke 31, tikus penelitian tersebut diterminasi dengan ketamin dan dislokasi servikal, kemudian diambil organ hepar untuk dibuat preparat dan diperiksa secara histopatologi. Pemeriksaan ini menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x, dan dihitung pada 5 lapang pandang dengan menggunakan kriteria skoring modifikasi Manja Roenigk, berupa nilai 1 = sel normal, 2 = degenerasi parenkimatos, 3 = degenerasi hidropik, dan 4 = nekrosis.¹²

Hasil

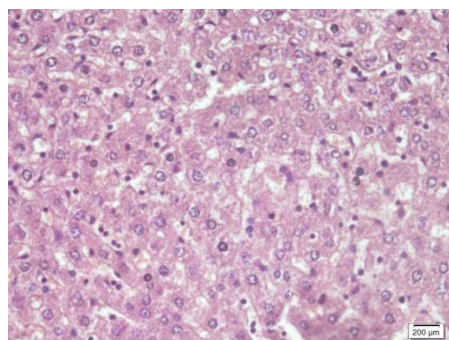
Pada kelompok K1 yang hanya diberikan akuades tanpa pemberian ekstrak buah bakau hitam dan *methanyl yellow*, didapatkan gambaran histopatologi

hepar berupa gambaran hepatosit tampak normal tersusun melingkari vena sentralis. Selain itu sinusoid hepar tampak normal tanpa adanya perbesaran. Skor rerata kerusakan sel hepar yang didapatkan pada tikus 1= 1,2; tikus 2= 1,4; tikus 3= 1; tikus 4= 1. Gambaran histopatologi hepar kelompok K1 disajikan pada Gambar 1 berikut.



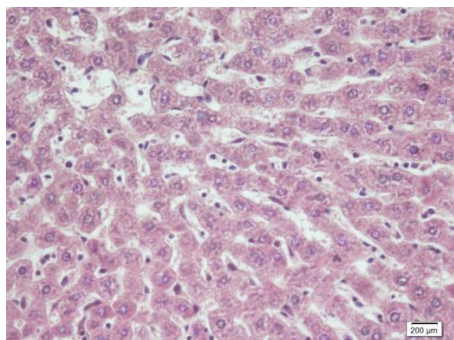
Gambar 1. Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok K1 (Pembesaran 400x)

Pada kelompok K2 yang hanya diberikan *methanyl yellow* dengan dosis 3000 mg/kgBB tanpa diberikan ekstrak buah bakau hitam, didapatkan gambaran kerusakan sel hepar pada beberapa lapang pandang berupa degenerasi parenkimatos yang luas dan pada beberapa lapang pandang ditemukan adanya degenerasi hidropik. Namun, tidak ditemukan sel hepar yang mengalami nekrosis. Skor rerata kerusakan sel hepar yang didapatkan pada tikus 1= 1,8; tikus 2= 2; tikus 3= 2,1; tikus 4= 1,8. Gambaran histopatologi hepar kelompok K2 disajikan pada Gambar 2 berikut.



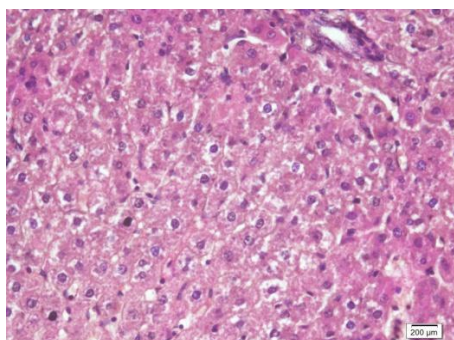
Gambar 2. Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok K2 (Pembesaran 400x)

Pada kelompok P1 yang diinduksi dengan ekstrak buah bakau hitam dengan dosis 3,75 mg/kgBB dan *methanyl yellow* dosis 3000 mg/kgBB, didapatkan gambaran hepatosit masih mengalami kerusakan seperti degenerasi parenkimatososa yang luas. Namun, kerusakan yang terjadi tidak semasif dibandingkan pada kelompok kontrol positif. Skor rerata kerusakan sel hepar yang didapatkan pada tikus 1= 1,4; tikus 2= 1,8; tikus 3= 1,2; tikus 4= 1,6. Gambaran histopatologi hepar kelompok P1 disajikan pada Gambar 3 berikut.



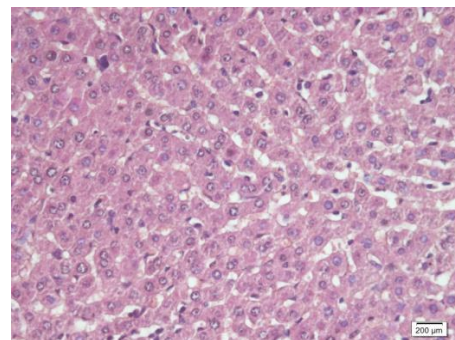
Gambar 3. Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok P1 (Pembesaran 400x)

Pada kelompok P2 yang diinduksi dengan ekstrak buah bakau hitam dengan dosis 7,5 mg/kgBB dan *methanyl yellow* dosis 3000 mg/kgBB, didapatkan gambaran hepatosit masih mengalami kerusakan berupa degenerasi parenkimatososa. Kerusakan yang terjadi sama seperti pada kelompok perlakuan 1. Skor rerata kerusakan sel hepar yang didapatkan pada tikus 1= 1,2; tikus 2= 1,8; tikus 3= 1,6; tikus 4= 1,4. Gambaran histopatologi hepar kelompok P2 disajikan pada Gambar 4 berikut.



Gambar 4. Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok P2 (Pembesaran 400x)

Pada kelompok P3 yang diinduksi dengan ekstrak buah bakau hitam dengan dosis 15 mg/kgBB dan *methanyl yellow* dosis 3000 mg/kgBB, didapatkan gambaran hepatosit mengalami kerusakan seperti degenerasi parenkimatososa. Namun, lebih baik dibandingkan pada kelompok perlakuan 1 atau perlakuan 2. Skor rerata kerusakan sel hepar yang didapatkan pada tikus 1= 1,2; tikus 2= 1,7; tikus 3= 1,6; tikus 4= 1,2. Gambaran histopatologi hepar kelompok P3 disajikan pada Gambar 5 berikut.



Gambar 5. Gambaran Histopatologi Hepar Kelompok P2 (Pembesaran 400x)

Data tiap kelompok kemudian diuji secara univariat atau deskriptif. Hasil perhitungan skor rerata kerusakan hepar yang terjadi pada masing-masing kelompok tercantum pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Skor Rerata Kerusakan Hepar

Kelompok	Rerata Skor Kerusakan Hepar	Persentase Penurunan (%)
K1	1,15	
K2	1,95	
P1	1,50	23,07%
P2	1,50	23,07%
P3	1,35	30,76%

Data kemudian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Berdasarkan uji *Saphiro-Wilk*, data terdistribusi normal ($p > 0,05$).

Data selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk melihat variansi data. Berdasarkan uji homogenitas, data terdistribusi homogen atau variansi sama ($p > 0,05$).

Data yang diketahui bersifat normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji hipotesis. Uji yang tepat untuk menilai hipotesis adalah *One Way Anova*. Berdasarkan uji *One Way Anova*, didapatkan adanya pengaruh signifikan pada pemberian ekstrak buah bakau hitam pada tikus putih yang diinduksi *methanyl yellow*. Hasil uji *One Way Anova* tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji *One Way Anova*

	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
<i>Between Groups</i>	1,932	4	2,269	0,002
<i>Within Groups</i>	0,730	15	-	-
<i>Total</i>	2,118	19	-	-

Untuk mengetahui lebih lanjut kelompok yang memiliki perbedaan bermakna, dilakukan uji *Post-Hoc*. Hasil dari uji *Post-Hoc* menunjukkan perbedaan bermakna pada kelompok K1-K2, K1-P1, K1-P2, K2-P1, K2-P2, K2-P3, sedangkan kelompok K1-P3, P1-P2, P1-P3, dan P2-P3 tidak bermakna secara statistik. Hasil dari uji *Post-Hoc* tercantum pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Uji *Post-Hoc*

No	Kelompok	Kelompok	Nilai p	Interpretasi
1	K1	K2	0,000*	Terdapat perbedaan yang signifikan
2		P1	0,040*	Terdapat perbedaan yang signifikan
3		P2	0,040*	Terdapat perbedaan yang signifikan
4		P3	0,219	Tidak terdapat perbedaan yang signifikan
5	K2	P1	0,011*	Terdapat perbedaan yang signifikan
6		P2	0,011*	Terdapat perbedaan yang signifikan
7		P3	0,002*	Terdapat perbedaan yang signifikan
8	P1	P2	1,000	Tidak terdapat perbedaan yang signifikan
9		P3	0,352	Tidak terdapat perbedaan yang signifikan
10	P2	P3	0,352	Tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Pembahasan

Pada kelompok kontrol positif (K2) dan kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) terjadi kerusakan sel hepar dengan skor rerata 1,95, 1,50, 1,50, dan 1,35. Peningkatan kerusakan hepar yang terjadi dibandingkan dengan kelompok K1 dipicu pemberian *methanyl yellow* selama 30 hari. Peningkatan kerusakan yang terjadi pada kelompok yang diinduksi *methanyl yellow* disebabkan oleh beragam mekanisme, seperti metabolisme *methanyl yellow* menjadi senyawa metabolit (asam metalinat dan p-aminodifenilamin) yang bersifat oksidan, hingga kemampuan *methanyl yellow* untuk meningkatkan kadar *Advanced glycation end-product* (AGE) hepar yang berperan pada peningkatan

stres oksidatif dan menyebabkan kerusakan sel.^{2,13}

Stres oksidatif yang diakibatkan pembentukan radikal bebas reaktif ini dapat mendegradasi asam nukleat dan molukel membran sel hepar sehingga pada pemeriksaan histopatologi akan terlihat gambaran sel mengalami degenerasi.¹⁴ Hasil dari penelitian ini sejalan dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa pemberian *methanyl yellow* dosis 3000 mg/hari selama 30 hari akan menyebabkan degenerasi pada struktur dan nukleus sel hepar tikus putih.⁶

Pemberian buah bakau (*Rhizophora mucronata*) yang bertindak sebagai antioksidan untuk melawan efek dari *methanyl yellow* menunjukkan hasil yang bermakna. Hal ini dibuktikan melalui hasil

uji *One Way Anova* yang menunjukkan nilai $p=0,002$ ($p<0,05$) yang diinterpretasikan bahwa pemberian ekstrak buah bakau hitam memiliki pengaruh signifikan terhadap gambaran histopatologi hepar tikus yang diinduksi *methanyl yellow*. Namun, berdasarkan hasil uji *Post-hoc*, tidak ditemukan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) sehingga diasumsikan bahwa dosis 3,75-15 mg/kgBB merupakan dosis yang mampu untuk memberikan pengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar yang diinduksi *methanyl yellow*.

Hasil ini sejalan dengan penelitian lain yang menunjukkan pemberian ekstrak buah bakau dengan dosis 15 mg/kgBB mampu menurunkan kadar AST serum paling besar (29,6%) dibandingkan dosis 25 mg/kgBB/hari (16,4%), 5 mg/kgBB/hari (7,6%), dan 1 mg/kgBB/hari (10,9%) sebagai indikator yang sering digunakan untuk mendeskripsikan kerusakan sel hepar.¹⁰ Studi lain menjelaskan bahwa pemberian buah bakau hitam dosis 7,5 mg/kgBB dan dosis 15 mg/kgBB memberikan gambaran peningkatan sel kuffer yang mengindikasikan dosis tersebut bersifat hepatoprotektif, sedangkan pada dosis 30 mg/kgBB menunjukkan gambaran degenerasi, pembengkakan dan nekrosis sel hepar.¹¹

Kemampuan buah bakau hitam sebagai antioksidan berkaitan erat dengan kandungan biokimia yang terkandung di dalamnya seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan hidrokuinon. Terutama flavonoid yang mampu meningkatkan aktivitas sel imun seperti makrofag untuk menghadapi stres oksidatif yang terjadi pada tubuh.^{9,10,11} Mekanisme hepatoprotektif yang dimiliki buah bakau hitam diduga terkait aktivitas inhibisi *cytochrome P450-dependent oxygenase* dan pencegahan peroksidasi lipid sehingga membran sel tidak rusak akibat stress oksidatif yang terjadi.¹⁵

Kesimpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak buah bakau

hitam (*Rhizophora mucronata*) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *methanyl yellow* berupa penurunan rerata kerusakan sel hepar dibandingkan kelompok kontrol positif. Dosis yang mampu memberikan pengaruh tersebut adalah dosis 3,75-15 mg/kgBB.

Daftar Pustaka

1. Menkes RI. Permenkes No 033 tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan. Jakarta: Menteri Kesehatan RI; 2012.
2. BPOM, Bahaya keracunan metanil yellow pada pangan [internet]. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2012 [disitasi tanggal 28 November 2019]. Tersedia dari <http://ik.pom.go.id>
3. Zuraida R, Saputra O, Sahli Z, Aprilia A. Faktor-faktor yang mempengaruhi pedagang jajanan anak sekolah dasar terhadap penggunaan pewarna metanil yellow di Kecamatan Sukarame Bandar Lampung tahun 2015. *Jurnal AgroMed Unila*. 2017;4(1):1–6.
4. Ghosh D, Singha PS, Firdaus SB, Ghosh S. Metanil yellow: the toxic food colorant. *Journal Asian Pacific of Health Sciences*. 2017;4(4):65–66.
5. Sarkar R, Ghosh AR. Metanil yellow, a food additive induces the responses at cellular and sub-cellular organisations of stomach, intestine, liver, and kidney of *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Journal EM Int*. 2010;29(3):453-460.
6. Sarkar R, Ghosh AR. Metanil yellow-an azo dye induced histopathological and ultrastructural changes in albino rat (*Rattus norvegicus*). *Journal The Bioscan*. 2012;7(1):427–432.
7. Sharma UK, Kumar R, Gupta A, Ganguly R, Singh AK, Ojha AK, et al. Ameliorating efficacy of eugenol against metanil yellow induced toxicity in albino wistar rats. *Journal Food and Chemical Toxicology*. 2019;126:34–40.
8. Ridlo A, Pramesti R, Supriyanti E. Soenardjo N. Aktivitas antioksidan ekstrak daun mangrove *Rhizophora mucronata*. *Jurnal Buletin Oseanografi Marina* Oktober. 2017;6(2):110–116.

9. Purwaningsih S, Salamah E, Sukarno AYP, Deskawati E. Aktivitas antioksidan dari buah mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk.) pada suhu yang berbeda. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 2013;16(3):199–206.
10. Purwaningsih S, Handharyani E, Sukarno AYP. Hepatoprotective effects ethanol extract of mangrove propagule (*Rhizophora mucronata*) in white rat strain *Sprague dawley* induced carbon tetrachloride (CCl₄). Proceedings of the International Symposium on Aquatic Product Processing; 2013 Nov 13; Bogor. Indonesia: ISAPPROSH, 2015.
11. Sari IN. Aktivitas imunostimulan ekstrak buah bakau hitam (*Rhizophora mucronata*) secara in vivo pada tikus (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2016.
12. Muhartono, Oktarlina RZ, dan Purohita NS. Pengaruh pemberian minuman ringan berkarbonasi terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley*. Jurnal Majority. 2019;8(1):71–77.
13. Al-Malki AL, Sayed AAR. Bees' honey attenuation of metanil-yellow-induced hepatotoxicity in rats. Journal Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013(614580):1-9.
14. Richard NM, Ramzi SC. Jejas, Adaptasi, dan Kematian Sel. Dalam: Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Buku ajar patologi Robbins. Edisi ke-7. Singapura: Elsevier Saunders. 2007. hlm 3-34
15. Ravikumar S, Gnanadesigan M. Hepatoprotective and antioxidant properties of *Rhizophora mucronata* mangrove plant in CCl₄ intoxicated rats. Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2012;4(1):66–72.