

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI KETUMBAR
(*Coriandrum sativum* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI DAN
BERAT ORGAN LIMPA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

(Skripsi)

Oleh

RUBEN FERDIAN

2218011092



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI KETUMBAR
(*Coriandrum sativum* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI DAN
BERAT ORGAN LIMPA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG
DIINDUKSI PARASETAMOL**

Oleh
RUBEN FERDIAN

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada
**Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum L.*) TERHADAP HISTOPATOLOGI DAN BERAT ORGAN LIMPA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**

Nama Mahasiswa

: **Ruben Ferdian**

No. Pokok Mahasiswa

: 2218011092

Program Studi

: Pendidikan Dokter

Fakultas

: Kedokteran



Dr. dr. Susanti, S. Ked., M. Sc.

NIP 197808052005012003

Ratri Mauluti L., S. Si., M. Biomed.

NIP 199707172023212021



2. Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

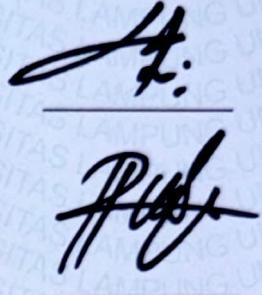
NIP 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Pengudi

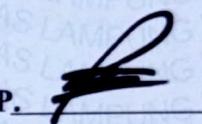
Ketua

: **Dr. dr. Susanti, S. Ked, M. Sc.**



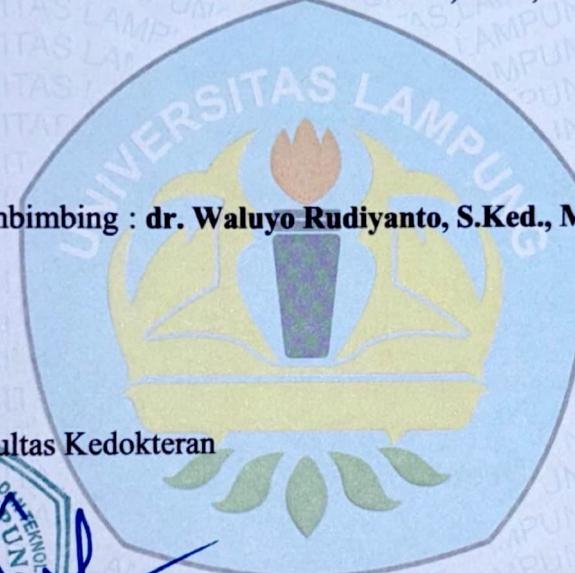
Sekretaris

: **Ratri Mauluti Larasati, S. Si., M. Biomed.**



Pengudi

Bukan Pembimbing : **dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes., Sp. KKLP.**

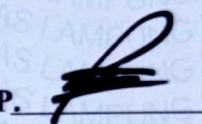


2. Dekan Fakultas Kedokteran




Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

NIP 19760120 200312 2 001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 19 Desember 2025

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ruben Ferdian
NPM : 2218011092
Program Studi : Pendidikan Dokter
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap Histopatologi dan Berat Organ Limpa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Parasetamol

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL KARYA SAYA SENDIRI**. Apabila di kemudian hari terbukti adanya plagiarisme dan kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, 19 Desember 2025

Mahasiswa,



Ruben Ferdian

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di sebuah desa bernama Bumi Nabung Baru yang terletak di Kecamatan Bumi Nabung, Kabupaten Lampung Tengah pada tanggal 18 Februari 2005. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara dan merupakan putra satu-satunya dari Bapak Hardo Kahono dan Ibu Martha Sibarani.

Penulis mengenyam bangku taman kanak-kanak di TK Aisyah Bustanul Athfal 3 Bumi Nabung Baru dan melanjutkan dekolah dasar di SD Negeri 2 Bumi Nabung Baru yang diselesaikan pada tahun 2016. Kemudian penulis melanjutkan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 1 Rumbia dan lulus pada tahun 2019. Penulis menamatkan sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Kota Gajah, Lampung Tengah pada tahun 2022.

Setelah lulus dari sekolah menengah atas, penulis mendaftarkan diri ke perguruan tinggi melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan diterima sebagai mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, penulis banyak belajar baik secara akademik maupun non-akademik. Diantaranya penulis mengikuti organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM), Cimsa FK Unila, dan tergabung dalam Asisten Dosen Fisiologi. Organisasi dan komunitas tersebut yang pada akhirnya menjadi wadah bagi penulis untuk berkembang dan bertumbuh.

*Dengan Penuh Rasa Syukur Kepada
Tuhan Allah, Kupersembahkan
Karya Kecilku Ini*

Kepada

*Keluargaku Terkasih, Bapak, Ibu, dan
Kakak-kakakku yang Terus
Mendukung dan Mendoakan.
Serta Almamater Tercinta, Unila.*

SANWACANA

Syukur kepada Tuhan Allah Bapa karena anugerah dan kemurahan-Nya bagi saya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap Hitopatologi dan Berat Organ Limpa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Parasetamol” disusun sebagai pemenuh syarat guna mencapai gelar sarjana di Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA., selaku Ketua Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Intanri Kurniati, S.Ked., Sp.PK., selaku Kepala Program Studi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. Dr. dr. Susianti, M.Sc. selaku Pembimbing Pertama sekaligus orang tua kedua penulis yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing, memberikan kritik dan saran yang konstruktif selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas segala dukungan dan nasihat yang tidak pernah putus diberikan selama proses penyusunan skripsi, penulis sangat menghargai ilmu yang telah dibagikan;
6. Ibu Ratri Mauluti Larasati, S.Si., M.Biomed. selaku Pembimbing Kedua, yang bersedia meluangkan waktu dan tenaga, serta dengan sabar memberikan bimbingan, dukungan, kritik, saran yang membangun dalam

penyelesaian skripsi ini. Terima kasih atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis;

7. dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes., Sp.KKLP. selaku Pembahas, yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, kritik, saran, dan pembahasan yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak akan pernah saya lupakan. Terima kasih atas arahan dan nasihat yang diberikan selama proses penyusunan skripsi ini;
8. Segenap jajaran dosen dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah mendidik dan membantu penulis selama perkuliahan;
9. Bapak dan ibuku tercinta, terima kasih atas dukungan, semangat, doa, kasih sayang, dan motivasi yang luar biasa, yang selalu menjadi alasanku untuk tetap berjuang sampai saat ini;
10. Kakakku, Kak Allen, Lae Pakpahan, Kak Oa, Lae Simanjuntak, Kak Ades, dan Lae Pasaribu atas doa, semangat, motivasi, dukungan, dan contoh yang baik. Tidak lupa juga keponakanku, Ramando, Alvin, dan Glory yang selalu memberikan semangat untuk Tulang;
11. Seluruh staff Balai Veteriner, yang sudah membantu saya selama proses penelitian;
12. Mas Anggi, yang sudah membantu selama merawat tikus di *animal house*;
13. Pak Bayu, yang sudah membantu dalam proses foto preparat.
14. Teman-teman satu tim ketumbar, Nisa, Syahna, dan Ghina atas kerja sama dan keceriaannya selama persiapan, proses, hingga selesaiya penelitian;
15. Keluarga Sirisirisi, Cindy, Damar, Ipan, Key, Mpit, Nana, Naomi, Sabmet, Sashi, dan Venna yang telah menjadi rumah selama masa kuliah;
16. Teman-teman CSL dan Tutorial dari semester 1 sampai 7 atas kehangatan dan keceriaannya;
17. Teman-teman BEM khususnya Pendpro atas pengalaman dan canda-tawanya;
18. Teman-teman Asdos Fisiologi atas pengalaman dan keceriaannya;
19. Teman-teman seperjuangan angkatan 2022 (Troponin-Tropomiosin), terima kasih untuk segala memori indahnya selama 7 semester ini. Semoga

perjuangan yang sudah kita lalui dapat membantu kita menjadi dokter yang profesional;

20. Terima kasih kepada segala pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah mendukung dan membantu dalam penyusunan skripsi ini.
21. Diri sendiri yang selalu memilih berusaha dengan jujur dan tidak menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 19 Desember 2025

Penulis

RUBEN FERDIAN

ABSTRACT

THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF CORIANDER SEEDS (*Coriandrum sativum L.*) ON THE HISTOPATHOLOGY AND SPLEEN WEIGHT OF WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) SPRAGUE DAWLEY STRAIN INDUCED BY PARACETAMOL

By

RUBEN FERDIAN

Background: Paracetamol overdose may induce oxidative stress and damage lymphoid organs, including the spleen. Coriander seed extract (*Coriandrum sativum L.*) contains antioxidant compounds that potentially protect lymphoid tissue from paracetamol-induced toxicity.

Methods: This experimental study used 25 male *Rattus norvegicus* Sprague Dawley rats divided into five groups ($n=5$): normal control (KN), negative control (K-; paracetamol 0.36 mg/gBW), and three treatment groups receiving paracetamol plus coriander seed extract at doses of 62.5 (P1), 125 (P2), and 250 mg/kgBW (P3) for 10 days. After termination, spleens were weighed and prepared for histopathological examination (score 0–3). Data were analyzed using the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests for histopathological scores, and One-Way ANOVA with Tukey HSD for spleen weight.

Results: Significant differences were found among groups for histopathological scores ($p=0.002$) and spleen weight (ANOVA $F = 9.412$; $p<0.001$). Group P2 showed no significant difference from the normal control ($p=0.230$), indicating near-normal histological recovery, while the negative control differed significantly from all other groups. The highest mean spleen weight was observed in P3 (2.113 g), significantly higher than K- ($p=0.001$) and P1 ($p<0.001$), and approaching KN ($p=0.057$).

Conclusions: Ethanolic extract of coriander seeds demonstrated protective effects against histological alterations and spleen weight reduction induced by paracetamol, with the most pronounced efficacy observed at medium to high doses (125–250 mg/kgBW).

Keywords: *Coriandrum sativum*, histopathology, organ weight, paracetamol, spleen

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI KETUMBAR (*Coriandrum sativum* L.) TERHADAP HISTOPATOLOGI DAN BERAT ORGAN LIMPA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI PARASSETAMOL

Oleh

RUBEN FERDIAN

Latar Belakang: Overdosis parasetamol dapat menimbulkan stres oksidatif dan kerusakan organ limfoid, termasuk limpa. Ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) mengandung senyawa antioksidan yang berpotensi melindungi jaringan limfoid dari toksisitas.

Metode: Penelitian eksperimental menggunakan 25 tikus jantan *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley dibagi menjadi 5 kelompok (n=5): kontrol normal (KN), kontrol negatif (K-; parasetamol 0,36 mg/gBB), dan tiga kelompok perlakuan yang diberi parasetamol plus ekstrak biji ketumbar dosis 62,5 (P1), 125 (P2) dan 250 mg/kgBB (P3) selama 10 hari. Setelah terminasi, limpa ditimbang dan dibuat preparat histopatologi (skor 0–3). Analisis statistik: Kruskal–Wallis dan Mann–Whitney untuk skor histopatologi; One-Way ANOVA dan Tukey HSD untuk berat limpa.

Hasil: Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok pada skor histopatologi ($p=0,002$) dan berat limpa (ANOVA $F=9,412$; $p<0,001$). Pada penilaian histopatologi, P2 tidak berbeda signifikan dibanding KN ($p=0,230$) menunjukkan perbaikan mendekati normal; K- berbeda signifikan dengan kelompok lain. Untuk berat limpa, kelompok P3 memiliki rerata tertinggi (2,113 g) dan berbeda signifikan terhadap K- ($p=0,001$) dan P1 ($p<0,001$); P3 mendekati KN secara statistik ($p=0,057$).

Kesimpulan: Ekstrak etanol biji ketumbar menunjukkan efek protektif terhadap perubahan histologis dan penurunan berat limpa akibat induksi parasetamol, dengan efektivitas klinis paling menonjol pada dosis menengah–tinggi (125–250 mg/kgBB).

Kata Kunci: berat organ, *Coriandrum sativum*, histopatologi, limpa, parasetamol

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Institusi	4
1.4.3 Bagi Masyarakat	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 6
2.1 Ketumbar (<i>Coriandrum sativum L.</i>).....	6
2.1.1 Taksonomi Ketumbar	6
2.1.2 Deskripsi Ketumbar	6
2.1.3 Manfaat dan Kandungan Kimia Ketumbar	8
2.2 Parasetamol	9
2.2.1 Definisi Parasetamol	9
2.2.2 Farmakokinetik Parasetamol.....	11
2.2.3 Farmakodinamik Parasetamol.....	12
2.2.4 Toksisitas Parasetamol terhadap Limpa	13
2.3 Limpa.....	15
2.3.1 Anatomi Limpa	15
2.3.2 Fisiologi Limpa.....	18
2.3.3 Histologi Limpa	22
2.3.4 Pembesaran Organ Limpa (<i>Splenomegaly</i>).....	28
2.4 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	30
2.5 <i>Paracetamol-Induced Oxydative Stress</i> dan Antioksidan	32
2.6 Kerangka Teori.....	37
2.7 Kerangka Konsep	38
2.8 Hipotesis Penelitian.....	38

BAB III METODE PENELITIAN	39
3.1 Metode Penelitian.....	39
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	39
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	39
3.3.1 Populasi Penelitian.....	39
3.3.2 Sampel Penelitian	40
3.4 Kelompok Perlakuan	41
3.5 Identifikasi Variabel Penelitian	42
3.5.1 Variabel Bebas.....	42
3.5.2 Variabel Terikat	42
3.6 Kriteria Sampel.....	42
3.6.1 Kriteria Inklusi.....	42
3.6.2 Kriteria Eksklusi	42
3.7 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	43
3.7.1 Instrumen Penelitian	43
3.7.2 Bahan Penelitian	43
3.7.3 Alat Pembuatan Preparat Histologi.....	43
3.8 Definisi Operasional.....	45
3.9 Prosedur dan Alur Penelitian.....	46
3.9.1 Pembuatan Ekstrak Biji Ketumbar	46
3.9.2 Aklimatisasi Hewan Coba	47
3.9.3 Penghitungan Dosis dan Pemberian Parasetamol	48
3.9.4 Perhitungan Dosis dan Pemberian Ekstrak Biji Ketumbar	49
3.9.5 Terminasi dan Pengambilan Limpa Tikus Putih.....	51
3.9.6 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histologi	52
3.9.7 Alur Penelitian	55
3.10 Pengolahan dan Analisis Data.....	56
3.10.1 Pengelolaan Data	56
3.10.2 Analisis Data.....	56
3.11 Etika Penelitian.....	57
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	58
4.1 Hasil Penelitian.....	58
4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman Ketumbar.....	58
4.1.2 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Ketumbar.....	59
4.1.3 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Biji Ketumbar	59
4.1.4 Hasil Gambaran Histopatologi Limpa Tikus Putih.....	60
4.1.5 Hasil Skoring Kelompok Perlakuan	65
4.1.6 Hasil Pengukuran Makroskopis Berat Organ Limpa.....	66
4.1.7 Hasil Uji Statistik Variabel Mikroskopis (Histopatologi)	67
4.1.8 Hasil Uji Statistik Variabel Makroskopis (Berat Organ).....	71
4.2 Pembahasan	74
4.2.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Ketumbar	74
4.2.2 Kandungan dan Kualitas Ekstrak Biji Ketumbar.....	79
4.3 Keterbatasan Penelitian	80

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	81
5.1 Kesimpulan.....	81
5.2 Saran	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN	87

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Taksonomi <i>Coriandrum sativum</i> L.....	6
3.1 Definisi Operasional	45
3.2 Definisi Operasional (lanjutan).....	46
3.3 Batas Maksimum Volume Untuk Tiap Rute Pemberian	50
4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Biji Ketumbar.....	59
4.2 Hasil Uji Fitokimia	60
4.3 Hasil Skoring Kerusakan Limpa.....	66
4.4 Hasil Pengukuran Berat Limpa.....	67
4.5 Hasil Uji Normalitas Shapiro-Wilk	68
4.6 Hasil Uji Post Hoc Mann-Whitney	70
4.7 Uji Normalitas Shapiro-Wilk.....	71
4.8 Hasil Uji Post Hoc Tukey HSD	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Ketumbar	7
2.2 Struktur Kimia Parasetamol	10
2.3 Organ Limpa	16
2.4 Histologi limpa	22
2.5 Pulpa Putih (<i>white pulp</i>)	23
2.6 Pulpa Merah (<i>red pulp</i>)	24
2.7 Histologi Limpa Tikus	27
2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	31
2.9 Mekanisme Stres Oksidatif yang Diinduksi Parasetamol.....	34
2.10 Mekanisme Protektif Terhadap Stres Oksidatif oleh Antioksidan	35
2.11 Kerangka Teori	37
2.12 Kerangka Konsep.....	38
3.1 Alur Penelitian	55
4.1 Histologi Limpa Tikus (K-) Perbesaran 200x	61
4.2 Histologi Limpa Tikus (P1) Perbesaran 200x	62
4.3 Histologi Limpa Tikus (KN) Perbesaran 200x	63
4.4 Histologi Limpa Tikus (P2) Perbesaran 200x	64
4.5 Histologi Limpa Tikus (P3) Perbesaran 200x	65
4.6 Diagram Berat Organ Limpa Tiap Kelompok	66

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Persetujuan Etik Penelitian	88
2. Surat Izin Penelitian di Laboratorium Botani FMIPA Unila	89
3. Surat Keterangan Determinasi Tanaman	90
4. Surat Keterangan Hasil Skrining Fitokimia	92
5. Surat Keterangan Sehat Hewan Coba	93
6. Surat Izin Penelitian di Balai Veteriner	94
7. Surat Balasan Izin Melakukan Penelitian di Balai Veteriner.....	95
8. Dokumentasi Selama Penelitian.....	96
9. Analisis Statistik	99
10. Hasil Gambar Preparat Histologi	105
11. Foto Penimbangan Berat Organ Limpa	107

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Parasetamol termasuk dalam golongan obat yang paling sering diresepkan dan digunakan oleh masyarakat di seluruh dunia, terutama untuk mengatasi nyeri ringan hingga sedang dan menurunkan demam (Ayoub, 2021). Sebagai obat yang dijual bebas, parasetamol merupakan pengobatan standar dan lini pertama untuk demam dan nyeri akut dan diyakini akan tetap demikian selama bertahun-tahun mendatang (Ayoub, 2021). Meskipun telah digunakan secara klinis selama lebih dari satu abad, mekanisme kerja obat yang sudah dikenal ini terhadap organ-organ spesifik masih belum jelas dipahami (McCrae *et al.*, 2018). Saat ini, parasetamol diyakini meringankan demam dan nyeri melalui jalur penghambatan *first cyclooxygenase (COX-1) dan second cyclooxygenase (COX-2)* yang berperan dalam produksi mediator inflamasi seperti prostaglandin sebagai mediator utama pada nyeri inflamasi (Ayoub, 2021; Przybyła *et al.*, 2021). Sampai saat ini, parasetamol masih mendominasi pasar analgetik non-narkotika yang dijual bebas setelah terbukti aman pada dosis terapeutik dan terutama setelah berkurangnya penggunaan aspirin sejak tahun 1960-an karena toksisitas gastrointestinal dan hubungannya dengan *Reye's syndrome* pada anak-anak (Przybyła *et al.*, 2021).

Formulasi oral parasetamol sudah digunakan lebih dari 140 tahun tanpa efek samping yang relevan secara klinis yang biasanya terlihat pada dosis yang dianjurkan, yaitu hingga 4 gram per hari (Shiffman *et al.*, 2018). Overdosis atau penggunaan parasetamol yang tidak bijak dapat menyebabkan kerusakan dan gagal hati (McGill Hinson, 2020). Dalam overdosis parasetamol atau

ketika ketersediaan sulfat dan/atau aktivitas *sulfotransferase* rendah, *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI) terbentuk secara berlebihan (Thusius *et al.*, 2019). NAPQI mengikat protein mitokondria, membentuk *addukt* sitotoksik, yang menyebabkan disfungsi mitokondria dan nekrosis hepatoseluler yang parah (Jaeschke *et al.*, 2021). Setelah efek hepatotoksik langsung dari NAPQI, reaksi inflamasi dan kejadian kritis lainnya berkontribusi pada evolusi menuju regenerasi hati atau kerusakan hati yang *irreversible*. Kejadian tersebut meliputi stres oksidatif, pembentukan nitrogen reaktif, dan aktivasi *c-Jun N-terminal Kinase* (JNK) (McGill Hinson, 2020).

Selain menyebabkan kerusakan hati melalui stres oksidatif dan jalur JNK, toksisitas parasetamol juga dapat memengaruhi sistem imun melalui perubahan struktur dan fungsi organ limfoid. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa toksisitas parasetamol pada dosis yang tinggi dapat mempengaruhi organ terkait imunitas, seperti organ limfoid (Abbasi *et al.*, 2018; Ayoub, 2021; Gomaa, 2017; Rabei, 2011; Zubairu *et al.*, 2021). Penelitian oleh Rabei (2011) mengungkapkan bahwa overdosis parasetamol menyebabkan perubahan histologi limpa berupa degenerasi sel dan munculnya tanda-tanda inflamasi. Organ limfoid sendiri memiliki peran penting dalam imunitas tubuh seseorang. Salah satu organ limfoid adalah limpa (*spleen*). Limpa adalah organ limfoid sekunder terbesar yang menampung berbagai fungsi imunologis serta perannya dalam hematopoiesis dan pembersihan sel darah merah (Lewis *et al.*, 2019). Ini menjelaskan bahwa kerusakan organ limpa dapat menyebabkan penurunan imunitas tubuh atau kemampuan tubuh dalam melawan penyakit.

Efek toksik parasetamol ini menjadi tantangan tersendiri untuk perkembangan kesehatan. Masih belum banyak dijumpai penelitian terkait cara mencegah efek samping tersebut. Pendekatan dengan senyawa alami menjadi strategi yang potensial, mengingat Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang kaya dan berpotensi untuk dimanfaatkan dalam bidang kesehatan. Salah satu hasil alam yang memiliki potensi yaitu ketumbar (*Coriandrum sativum L.*). Selain digunakan sebagai rempah bumbu masakan, ketumbar juga telah lama menjadi

pilihan terapi tradisional di kalangan masyarakat. Telah diteliti juga bahwa ekstrak ketumbar memiliki efek antiinflamasi karena kandungan flavonoid yang cukup tinggi (Ifora *et al.*, 2021).

Ketumbar menjadi salah satu tanaman yang banyak diteliti karena kandungan senyawa bioaktifnya yang potensial. Diperkirakan bahwa ekstrak ketumbar, baik daun ataupun bijinya, memiliki potensial sebagai antioksidan, antibakterial, antifungal, antimikroba, insektisidal, neuroprotektif, dan anti-inflamasi (Al-Snafi, 2016). Ekstraksi biji ketumbar dengan metode pelarutan polar menunjukkan kandungan flavonoid yang cukup tinggi sehingga memberikan efek antioksidan dan anti-inflamasi (Tibebe *et al.*, 2024). Flavonoid diketahui dapat menghambat pembentukan asam arakidonat oksidatif dari fosfolipid dan mengurangi produksi hilir metabolit inflamasi dari metabolisme asam arakidonat, kerusakan oksidatif, dan induksi jalur inflamasi karena kapasitas antioksidan yang kuat (Ifora *et al.*, 2021). Dengan kandungan tersebut, ketumbar diperkirakan potensial untuk digunakan sebagai terapi pencegahan stres oksidatif akibat paparan zat toksik.

Parasetamol terbukti dapat meningkatkan stres oksidatif apabila dikonsumsi melebihi standar penggunaan (Wang *et al.*, 2017). Stres oksidatif yang ditimbulkan dari pemberian ibuprofen mampu dinetralisir oleh kandungan senyawa antioksidan dari ekstrak ketumbar melalui evaluasi gambaran histopatologi (Baghdadi *et al.*, 2016). Ekstrak ketumbar juga terbukti memberikan efek dalam mengurangi sitokin proinflamasi TNF-a dan *apoptotic cell death* pada kejadian iskemia (Kükner *et al.*, 2021).

Meskipun berbagai penelitian telah membuktikan aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif ekstrak biji ketumbar, kajian yang secara spesifik meneliti efeknya terhadap limpa masih sangat terbatas. Padahal, jaringan limpa memiliki peran penting dalam sistem imun dan dapat mengalami perubahan patologis akibat paparan toksin seperti penggunaan parasetamol yang berlebihan. Mengingat mekanisme stres oksidatif juga berperan dalam kerusakan organ limfoid, maka efek antioksidan ketumbar yang telah terbukti

pada hepar diduga dapat memberikan proteksi terhadap jaringan limpa. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan guna mengetahui pengaruh ekstrak biji ketumbar terhadap gambaran histopatologi jaringan limpa tikus putih yang diinduksi parasetamol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian ini, dapat ditentukan rumusan masalah, yaitu apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap gambaran histopatologi dan berat organ limpa tikus putih yang diinduksi parasetamol.

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap gambaran histopatologi dan berat organ limpa tikus putih yang diinduksi parasetamol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini memberikan pengalaman langsung dalam merancang dan melaksanakan penelitian eksperimental *in vivo*, serta memperdalam pemahaman mengenai mekanisme stres oksidatif akibat parasetamol dan potensi efek protektif dari ekstrak biji ketumbar. Selain itu, penelitian ini memperkaya wawasan peneliti terhadap metode evaluasi histopatologi organ limfoid seperti limpa dan pentingnya antioksidan dalam mencegah kerusakan jaringan.

1.4.2 Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah koleksi referensi ilmiah di lingkungan institusi, khususnya dalam bidang farmakologi, toksikologi, dan pengembangan obat herbal. Penelitian ini juga dapat menjadi dasar pengembangan penelitian lanjutan di laboratorium

maupun menjadi model pembelajaran bagi mahasiswa dalam menyusun karya ilmiah eksperimental.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini berpotensi memberikan informasi ilmiah awal mengenai manfaat biji ketumbar sebagai sumber antioksidan alami yang dapat melindungi tubuh dari kerusakan limpa akibat paparan zat toksik seperti parasetamol. Dalam jangka panjang, temuan ini dapat menjadi dasar pengembangan bahan alam sebagai terapi pendukung yang lebih aman, terjangkau, dan mudah diakses oleh masyarakat luas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.)

2.1.1 Taksonomi Ketumbar

Berikut adalah taksonomi tanaman ketumbar.

Tabel 2.1 Taksonomi *Coriandrum sativum* L.

Taksonomi <i>Coriandrum sativum</i> L.	
Kingdom	Plantae
Divisi	Spermatophyta
Sub divisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledonae
Bangsa	Apiales
Famili	Apiaceae
Genus	Coriandrum
Spesies	<i>Coriandrum sativum</i> L.

Sumber: (Rubiyanti, 2019)

2.1.2 Deskripsi Ketumbar

Coriandrum sativum L., atau ketumbar, adalah tanaman semusim yang berasal dari wilayah Timur Laut Laut Tengah dan telah dibudidayakan sejak zaman kuno. Tanaman ini termasuk dalam famili Apiaceae dan memperlihatkan keragaman morfologi yang cukup luas, terutama pada tinggi tanaman, bentuk daun, dan ukuran buah. Tinggi tanaman saat berbunga dapat berkisar antara 20 hingga 130 cm, tergantung pada varietas dan kondisi lingkungan. Beberapa bentuk yang tumbuh rendah

ditemukan di Afrika Utara, sedangkan bentuk bertangkai panjang lebih umum di Kaukasus. Perbedaan ini juga berkaitan dengan adaptasi terhadap kondisi agroklimat tertentu (Diederichsen, 1996).



Gambar 2.1 Tanaman Ketumbar, (A) Daun Ketumbar, (B) Biji Ketumbar (Mahleyuddin *et al.*, 2021).

Daun ketumbar memperlihatkan heterofili yang jelas. Daun bagian bawah tersusun dalam bentuk roset dan memiliki tangkai panjang serta bentuk menyirip menyeluruh atau berlobus tiga. Sementara itu, daun bagian atas cenderung lebih sempit, bersegmen halus seperti benang (*filiform*), dan memiliki tangkai yang sangat pendek atau bahkan tidak bertangkai. Daun bagian atas juga cenderung berubah warna menjadi kemerahan atau keunguan selama masa berbunga, terutama pada varietas tertentu. Ciri-ciri ini digunakan dalam taksonomi infraspesifik dan penting dalam program pemuliaan tanaman (Diederichsen, 1996).

Ketumbar menghasilkan buah kering kecil berbentuk bulat yang sering disebut "biji ketumbar", meskipun secara botani merupakan *schizocarp*. Buah ini terdiri atas dua merikarp yang bisa dipisahkan dan mengandung minyak atsiri serta minyak lemak. Kandungan kimia tersebut memberikan aroma khas pada ketumbar dan menjadikannya penting dalam industri makanan sebagai bumbu dapur. Selain penggunaannya sebagai rempah-rempah, ketumbar juga dimanfaatkan dalam bentuk segar sebagai sayuran daun di beberapa budaya (Diederichsen, 1996).

2.1.3 Manfaat dan Kandungan Kimia Ketumbar

Ketumbar telah dikenal sejak zaman kuno sebagai tanaman yang memiliki nilai penting dalam bidang kuliner maupun pengobatan. Di Yunani kuno, ketumbar digunakan dalam ramuan obat tradisional, termasuk oleh Hippocrates. Nama ilmiah *Coriandrum* sendiri berasal dari kata koris, yang merujuk pada bau menyengat dari daun dan buah muda tanaman ini. Penamaan ini mencerminkan karakteristik khas ketumbar yang memiliki aroma tajam namun berubah menjadi harum saat buahnya matang (Nadeem *et al.*, 2013).

Manfaat ketumbar tidak hanya terbatas pada kuliner. Di banyak sistem pengobatan tradisional, ketumbar telah digunakan untuk mengatasi gangguan pencernaan, merangsang nafsu makan, dan mengurangi peradangan. Komponen kimia dalam buahnya, terutama linalool dan senyawa fenolik lainnya, berkontribusi terhadap aktivitas farmakologis tersebut. Dengan demikian, *Coriandrum sativum* L. memiliki nilai ekonomi dan fungsional yang tinggi baik sebagai tanaman pangan maupun sebagai tanaman obat (Diederichsen, 1996).

Biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) telah dikenal sebagai sumber senyawa bioaktif yang potensial, terutama karena kandungan fenolik dan antioksidannya. Salah satu bentuk ekstrak yang umum digunakan dalam penelitian adalah ekstrak metanolik, yang terbukti mengandung senyawa fenolik dalam jumlah cukup tinggi. Kandungan ini biasanya diukur dalam satuan miligram ekuivalen asam galat per gram berat kering (mg GAE/g BK), dan nilainya dapat sangat bervariasi tergantung pada asal geografis dan metode ekstraksi yang digunakan. Variasi tersebut menunjukkan bahwa kualitas senyawa aktif dalam ketumbar sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan teknik ekstraksi, terutama polaritas pelarut yang dapat mempengaruhi jumlah dan jenis senyawa yang berhasil diekstraksi (Laribi *et al.*, 2015).

Ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum*) diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan imunomodulator yang signifikan melalui kandungan bioaktif seperti linalool, quercetin, dan asam fenolat yang mampu menetralkan ROS, meningkatkan kadar glutathione, serta menstabilkan lingkungan redoks selular. Pada jaringan limfoid seperti limpa, stabilisasi redoks ini berperan penting dalam mencegah kerusakan oksidatif yang biasanya memicu apoptosis limfosit, disorganisasi folikel, dan hilangnya pulpa putih. Selain itu, senyawa aktif ketumbar dapat menekan aktivasi jalur inflamasi seperti NF- κ B dan menurunkan ekspresi mediator proinflamasi (TNF- α , IL-1 β , COX-2), sehingga mengurangi infiltrasi makrofag dan perombakan arsitektur jaringan. Ketumbar juga dilaporkan meningkatkan proliferasi sel imun serta mendukung regenerasi folikel limfoid melalui peningkatan aktivitas antioksidan endogen (SOD, CAT, GPx) sehingga fungsi imun limpa dapat dipertahankan. Kombinasi efek antioksidan, antiinflamasi, dan imunoregulasi ini menjelaskan kemampuan ekstrak ketumbar dalam memperbaiki kerusakan struktural limpa dan menjaga integritas respons imun (Laribi *et al.*, 2015).

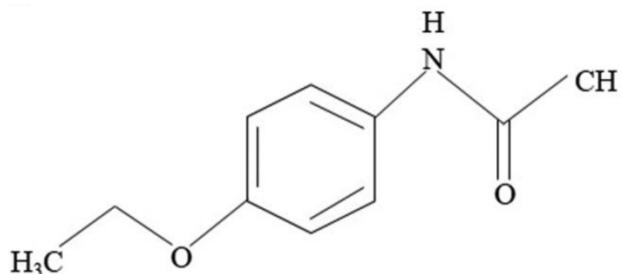
Tak hanya itu, ketumbar juga mengandung β -karoten dan berbagai jenis karotenoid lainnya dalam jumlah yang signifikan, yang semakin memperkuat profil antioksidan tanaman ini. Kandungan senyawa-senyawa bioaktif tersebut menjadikan biji ketumbar sebagai bahan alami yang menjanjikan untuk digunakan dalam pengembangan obat herbal maupun suplemen kesehatan (Laribi *et al.*, 2015).

2.2 Parasetamol

2.2.1 Definisi Parasetamol

Parasetamol atau yang dikenal sebagai asetaminofen (*N-acetyl-p-amino-phenol*) adalah suatu obat antipiretik dan analgesik yang paling umum digunakan di seluruh dunia (Ayoub, 2021). Parasetamol pertama kali ditemukan pada tahun 1878 oleh Morse dan diperkenalkan dalam

dunia medis sebagai obat pereda demam dan nyeri oleh Von Mering pada tahun 1893. Awalnya, parasetamol jarang digunakan karena lebih banyak digunakan fenasetin. Namun, setelah diketahui bahwa parasetamol merupakan metabolit utama dari fenasetin dan memiliki toleransi yang lebih baik terhadap toksisitas ginjal (nefrotoksisitas) yang disebabkan oleh fenasetin, maka pada tahun 1950-an parasetamol mulai menggantikan fenasetin dalam penggunaan klinis dan sejak saat itu menjadi obat yang umum digunakan secara luas (Przybyła *et al.*, 2021).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Parasetamol (Ayoub, 2021).

Prostaglandin merupakan mediator utama dalam nyeri inflamasi. Enzim yang bertanggung jawab atas sintesis prostaglandin ini disebut siklooksigenase (*cyclooxygenase*). Pada tahun 1971, John Vane berhasil mengidentifikasi enzim siklooksigenase pertama (COX-1), yang kemudian membantu menjelaskan mekanisme kerja aspirin, obat analgesik dan antiinflamasi yang telah digunakan secara luas sejak tahun 1899. Selanjutnya, pada tahun 1991, Xie dan tim di laboratorium Daniel Simmons, Brigham Young University, menemukan enzim siklooksigenase kedua (COX-2). Menariknya, struktur enzim COX-2 tidak jauh berbeda dari COX-1, namun keduanya memiliki signifikansi klinis yang berbeda. Akhirnya, pada tahun 2002, Chandrasekharan dan rekan menemukan siklooksigenase ketiga (COX-3) pada anjing, dan

mengusulkan bahwa ekspresi enzim ini kemungkinan berperan dalam efek antipiretik dari parasetamol (Ayoub, 2021; Przybyla *et al.*, 2021). Aktivitas analgesik parasetamol berkaitan dengan kemampuannya dalam menembus sawar darah otak dan melakukan penghambatan jalur siklooksigenase di sistem saraf pusat, mengurangi produksi prostaglandin yang memediasi rasa nyeri, serta meningkatkan transmisi endokanabinoid dan memodulasi jalir inhibisi serotonergik desendens. Penghambatan sintesis prostaglandin di otak berujung pada pengurangan *set-point* pusat pengaturan suhu di hipotalamus (Hilal *et al.*, 2019).

Parasetamol kini mendominasi pasar obat analgesik non-narkotik yang dijual bebas, terutama setelah terbukti memiliki profil keamanan yang baik pada dosis terapi. Popularitasnya semakin meningkat sejak penggunaan aspirin mulai menurun pada tahun 1960-an akibat toksisitas saluran cerna dan hubungannya dengan Sindrom Reye pada anak-anak. Saat ini, parasetamol menjadi pengobatan standar dan lini pertama untuk demam serta nyeri akut, dan diperkirakan akan tetap demikian selama bertahun-tahun ke depan. Hal ini terutama disebabkan oleh catatan keamanannya yang sangat baik dibandingkan dengan obat antiinflamasi non-steroid (OAINS). Penjualan parasetamol yang merupakan obat analgesik bebas paling banyak dikonsumsi terus meningkat dalam beberapa tahun terakhir, dan tren ini diprediksi akan berlanjut (Ayoub, 2021).

2.2.2 Farmakokinetik Parasetamol

Parasetamol oral memiliki bioavailabilitas yang sangat baik dibandingkan dengan rute pemberian intravena, dengan kecepatan penyerapan yang dipengaruhi dosis, konsentrasi puncak dalam plasma tercapai dalam waktu sekitar 30–60 menit setelah dikonsumsi. Waktu paruh plasma ($t_{1/2}$) sekitar 120 menit (Katzung *et al.*, 2017). Parasetamol memiliki ikatan yang lebih rendah terhadap protein plasma

dibandingkan NSAID, dan mampu berdifusi ke sebagian besar cairan tubuh. Ekskresi utamanya dilakukan oleh ginjal dalam bentuk konjugat glukuronida. Sekitar 90–100% dari obat dapat ditemukan kembali dalam urin dalam 24 jam pertama pada dosis terapi (Freo *et al.*, 2021). Sebagian besar parasetamol diubah menjadi senyawa tidak aktif melalui proses konjugasi dengan sulfat dan glukuronida. Namun, sebagian kecil dimetabolisme melalui sistem enzim sitokrom P450, khususnya oleh isoenzim CYP2E1 dan CYP1A2, menjadi metabolit alkilasi *N*-asetil-*p*-benzoquinone imine (NAPQI) yang diketahui sebagai penyebab toksitas hati akibat parasetamol. Berdasarkan tingkat ekspresi enzim CYP2D6, individu dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok metabolisme: *extensive metabolizers*, *ultrarapid metabolizers*, dan *poor metabolizers* (Freo *et al.*, 2021).

2.2.3 Farmakodinamik Parasetamol

Mekanisme kerja analgesik parasetamol hingga saat ini belum sepenuhnya dipahami dan diduga melibatkan aksi baik pada sistem saraf perifer maupun sistem saraf pusat. Secara umum, parasetamol diketahui mampu menurunkan konsentrasi prostaglandin jaringan serta mediator proinflamasi, yang proses sintesisnya juga dihambat oleh aspirin (asam asetilsalisilat). Namun demikian, berbeda dengan aspirin, parasetamol tidak menunjukkan efek antiinflamasi yang bermakna dan tidak menghambat sintesis tromboksan yang bersifat prokoagulasi. Meskipun parasetamol diketahui dapat menghambat aktivitas enzim siklooksigenase (COX), mekanisme kerjanya diduga berlangsung melalui dua jalur molekuler alternatif utama. Enzim prostaglandin G/H sintase, yang juga dikenal sebagai COX, berperan penting dalam metabolisme asam arakidonat menjadi prostaglandin G/H, suatu senyawa tidak stabil yang dengan cepat diubah menjadi berbagai derivat proinflamasi lainnya. Pada mekanisme ini, obat antiinflamasi nonsteroid (NSAID) bekerja dengan menghambat secara selektif tahapan tersebut (Freo *et al.*, 2021).

Terdapat dua bentuk COX, yaitu COX-1 dan COX-2. Inhibisi COX-2 diyakini menjadi mekanisme utama untuk efek antipiretik, analgesik, dan antiinflamasi dari NSAID. Aspirin merupakan inhibitor non-kompetitif yang ireversibel karena ia mengasetilasi isoenzim pada saluran pengikatan aspirin. Parasetamol bekerja sebagai inhibitor non-kompetitif yang reversibel dengan mengurangi aktivitas pada situs peroksida dari enzim tersebut (Freo *et al.*, 2021).

2.2.4 Toksisitas Parasetamol terhadap Limpa

Parasetamol pada dosis tinggi dimetabolisme oleh sistem enzim CYP450 menjadi metabolit reaktif *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Dalam kondisi normal, NAPQI akan didetoksifikasi oleh glutathione (GSH). Namun, ketika parasetamol diberikan dalam jumlah berlebih, cadangan GSH menurun sehingga NAPQI berakumulasi dan berikatan dengan protein seluler. Akumulasi metabolit reaktif ini memicu stres oksidatif sistemik yang dapat menjangkau berbagai organ termasuk limpa, yang merupakan pusat respon imun terhadap antigen dalam darah (Jaeschke *et al.*, 2021).

Stres oksidatif yang disebabkan oleh NAPQI berperan dalam merusak membran sel, protein, serta DNA melalui peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Pada jaringan limfoid seperti pulpa putih limpa, peningkatan ROS memperburuk fungsi sel limfoid dan makrofag splenik. Makrofag sendiri dapat menambah beban ROS ketika memfagositosis sel darah atau protein yang teraduksi oleh parasetamol, sehingga menciptakan lingkaran kerusakan oksidatif yang lebih luas. Peningkatan ROS inilah yang menjadi pemicu awal gangguan integritas arsitektur mikro limpa (Jaeschke *et al.*, 2021; Mandal *et al.*, 2016).

Stres oksidatif yang berat akan mengaktifkan berbagai jalur stres seluler, salah satunya jalur *c-Jun N-terminal kinase* (JNK). Aktivasi

JNK berperan penting dalam menyebabkan disfungsi mitokondria karena enzim yang terfosforilasi cenderung memperkuat produksi ROS di dalam organel tersebut. Ketidakseimbangan antara protein pro-apoptotik (misalnya Bax dan Bim) dan protein anti-apoptotik (seperti Bcl-2) kemudian menyebabkan terjadinya *mitochondrial outer membrane permeabilization* (MOMP), yang merupakan langkah awal dalam inisiasi jalur apoptosis intrinsic (Jaeschke *et al.*, 2021; Mandal *et al.*, 2016).

Setelah permeabilitas membran mitokondria terganggu, *cytochrome-c* dilepaskan ke sitosol, yang kemudian mengaktifkan kompleks apotosom serta serangkaian enzim eksekutor seperti *caspase-9* dan *caspase-3*. Aktivasi caspase ini mengarah pada apoptosis sel limfoid, termasuk sel B di germinal center dan sel T di *periarteriolar lymphoid sheath*. Apoptosis yang meluas memicu atrofi folikel limfoid, hilangnya struktur germinal center, dan penyusutan pulpa putih (Mandal *et al.*, 2016).

Selain apoptosis, infiltrasi makrofag juga meningkat sebagai respons terhadap kematian sel yang luas. Makrofag berfungsi melakukan fagositosis terhadap debris seluler. Namun, pada kondisi toksik, peningkatan aktivitas makrofag justru dapat memperburuk lingkungan oksidatif dan mengubah arsitektur jaringan (Tanino *et al.*, 2024). Kombinasi stres oksidatif, disfungsi mitokondria, apoptosis sel limfoid, dan aktivitas makrofag inilah yang membentuk gambaran khas kerusakan limpa pada paparan parasetamol dosis tinggi, yaitu atrofi pulpa putih, hilangnya definisi germinal center serta marginal zone, dan batas *white pulp–red pulp* yang menjadi kabur (Mandal *et al.*, 2016).

Secara histologis, limpa yang terpapar parasetamol menunjukkan penyusutan *white pulp*, deformasi arsitektur jaringan, penebalan trabekula, serta pelebaran vaskular. *Red pulp* menjadi lebih dominan dengan gambaran edema dan peningkatan jumlah megakariosit. Pada

beberapa kasus, ditemukan aktivitas mitosis limfosit di *white pulp*, yang merefleksikan upaya kompensasi tubuh terhadap stres imunologis. Gambaran ini menandakan adanya gangguan dalam keseimbangan antara *red pulp* dan *white pulp*, yang berimplikasi pada penurunan kapasitas imunologis limpa (Abbasi *et al.*, 2018)

Dari aspek fungsional, parasetamol terbukti menurunkan selularitas limpa, yaitu jumlah total sel imun yang berada di dalam jaringan tersebut (Rabei, 2011). Fungsi fagositik neutrofil polimorfonuklear (PMN) dan makrofag terhadap *Staphylococcus aureus* juga mengalami penurunan signifikan, baik dalam proses penelahan maupun penghancuran bakteri. Secara imunologis, paparan parasetamol menekan produksi sitokin Th1 (IFN- γ) yang berperan dalam imunitas seluler, tanpa memengaruhi kadar sitokin Th2 (IL-10) secara bermakna. Pergeseran ini menyebabkan keseimbangan sistem imun cenderung condong ke arah anti-inflamasi, sehingga respons tubuh terhadap infeksi menjadi lebih lemah (Gomaa, 2018).

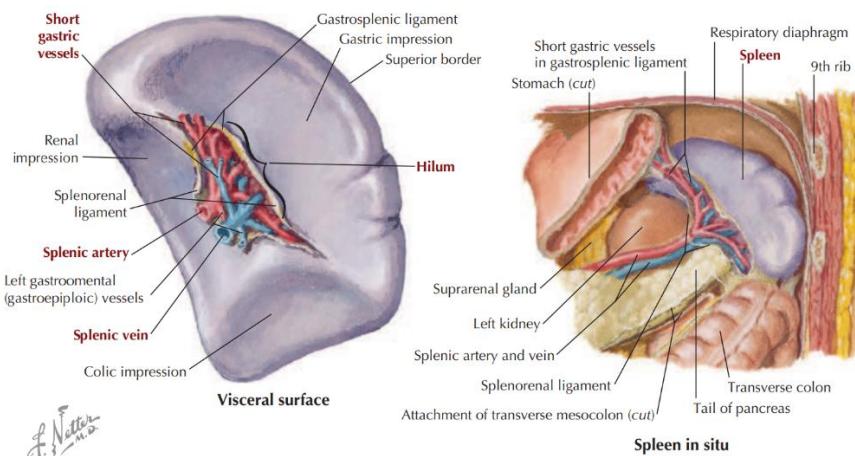
Dengan demikian, mekanisme parasetamol dalam memengaruhi limpa merupakan interaksi kompleks antara efek sistemik dari metabolit toksik, gangguan keseimbangan sitokin, dan perubahan morfologi jaringan limfoid. Kombinasi faktor-faktor tersebut menurunkan efektivitas limpa dalam menjalankan fungsi utamanya sebagai organ filtrasi darah dan pusat respons imun.

2.3 Limpa

2.3.1 Anatomi Limpa

Limpa adalah salah satu organ asimetris yang terletak di kuadran kiri atas rongga abdomen (Mahadevan, 2019). Limpa berbentuk seperti kacang kapri, adalah organ limfoid terbesar di tubuh manusia. Limpa terdiri atas limpa merah (*red pulp*) dan limpa putih (*white pulp*). Pulpa merah dan pulpa putih masing-masing berjumlah 75% dan 20%. Limpa

berwarna merah tua, lunak, dan rapuh. Secara umum, limpa orang dewasa berukuran panjang sekitar 12 cm, lebar 7 cm, tebal 3–4 cm, dan berat 110–200 g (Ouyang *et al.*, 2021).



Gambar 2.3 Organ Limpa (Netter, 2019).

Limpa terletak di posterolateral daerah kosta kiri antara lambung dan diafragma dan tidak dapat disentuh di bawah batas kosta dalam pemeriksaan fisik normal (Mahadevan, 2019). Ditutupi oleh lengkung kosta kiri dari depan, limpa berhubungan dengan tulang rusuk ke-9 hingga ke-11, dan sumbu panjangnya sesuai dengan tulang rusuk ke-10. Limpa sekitar 2,5 cm lebih rendah dalam posisi tegak daripada dalam posisi terlentang. Ujung posterior limpa sejajar dengan tulang belakang lumbal kesembilan dan sekitar 4–5 cm dari garis tengah posterior; ujung anterior sejajar dengan tulang belakang lumbal pertama dan tidak berada di luar garis tengah aksila. Kutub bawah limpa terletak di tulang rusuk ke-11 dari garis aksila anterior kiri. Dari permukaan diafragma limpa, 1/3 bagian atas ditutupi oleh tepi bawah paru-paru kiri, 1/3 bagian tengah ditutupi oleh resesus kostofrenikus kiri, dan 1/3 bagian bawah ditutupi oleh batas bawah pleura dan titik awal bagian kostofrenikus (Ouyang *et al.*, 2021).

Limpa memiliki dua permukaan (permukaan diafragma dan permukaan viseral), dua tepi (tepi anterior dan tepi posterior), dan dua kutub (kutub atas dan kutub bawah). Permukaan diafragma cembung dan dekat dengan diafragma. Pukulan pada bagian kiri bawah dada atau kuadran kiri atas dapat menyebabkan ruptur limpa. Permukaan viseral depan (permukaan lambung) bersentuhan dengan fundus lambung, dan permukaan viseral belakang (permukaan ginjal) bersentuhan dengan ginjal kiri dan bagian depan kelenjar adrenal kiri. Hilum limpa adalah tempat masuknya pembuluh darah, berkas saraf, dan pembuluh limfatis (pembuluh darah, berkas saraf, dan pembuluh limfatis secara kolektif disebut sebagai pedikel limpa) limpa ke dalam dan keluar limpa. Tepi anterior limpa tipis dan tajam, menyisip ke atas secara miring ke dalam ruang antara fundus lambung dan diafragma dan memanjang ke bawah antara fleksura limpa kolon transversum dan diafragma. Ketika lobus hepaticus lateral kiri menjadi hipertrofi, sebagian tepi anterior limpa dapat ditutupi oleh lobus hati yang hipertrofi. Kadang-kadang perlu untuk membedah lobus hepaticus lateral kiri dan membalikkannya ke kanan untuk memperoleh paparan penuh kutub atas limpa. Tepi posterior limpa tumpul dan miring ke bawah. Kutub atas limpa tumpul dan bulat, dan kutub bawah agak tajam (Ouyang *et al.*, 2021).

Seperti yang telah disebutkan sebelumnya, limpa adalah organ yang kaya akan vaskularisasi. Arteri lienalis (*splenic artery*) merupakan pemasok utama darah ke limpa, masuk melalui hilus lienalis yang terletak di tengah permukaan viseral organ tersebut. Arteri lienalis bercabang dari *trunkus celiacus* dan berjalan di dalam ligamen *splenorenal*, melintas secara lateral dan di atas permukaan superior pankreas. Saat mendekati limpa, arteri lienalis bercabang menjadi 5 cabang yang masing-masing menyuplai darah ke wilayah berbeda dari organ tersebut. Hasil dari percabangan ini adalah segmentasi vaskular pada limpa karena kelima cabang tersebut tidak saling beranastomosis. Vena lienalis (*splenic vein*) berfungsi sebagai saluran drainase vena dari

limpa. Vena ini juga keluar dari hilus dan berjalan di belakang pankreas, kemudian bergabung dengan vena mesenterika superior untuk membentuk vena porta. Limpa merupakan organ utama dalam sistem limfatis, sehingga mengandung pembuluh limfatis yang tidak selalu berada dalam jaringan limpa itu sendiri, melainkan muncul dari daerah kapsul. Namun, pembuluh limfatis pada limpa hanya terdiri dari pembuluh limfatis *eferen*, dengan limpa berfungsi secara analog seperti kelenjar getah bening besar yang mengalirkan materi limfatis ke kelenjar getah bening terdekat, seperti kelenjar getah bening *pankreatikoliénalis* (Chaudhry *et al.*, 2023).

Pada manusia dan tikus, limpa terletak di kuadran kiri atas abdomen berdekatan dengan kurvatura mayor lambung. Limpa pada tikus memiliki bentuk yang relatif lebih memanjang dibandingkan limpa manusia, dengan berat sekitar 100–200 mg pada tikus berusia 2–4 bulan dan 500–750 mg pada tikus besar muda. Limpa tikus diselubungi kapsul yang tersusun atas jaringan fibrosa, serabut elastis, dan otot polos, yang dilapisi oleh lapisan tipis sel mesotel. Sementara itu, limpa manusia memiliki berat sekitar 150 g dan dikelilingi kapsul jaringan ikat yang mengandung kolagen dan sedikit otot polos. Jumlah otot polos pada kapsul limpa, baik pada tikus maupun manusia, relatif rendah dibandingkan mamalia lain, yang mencerminkan fungsi penyimpanan atau cadangan darah yang lebih terbatas pada kedua spesies ini. Pembuluh darah masuk dan keluar limpa melalui hilum pada keduanya; darah masuk melalui arteri lienalis dan keluar melalui vena lienalis yang bermuara ke vena porta. Pada beberapa kasus, limpa aksesoris dapat ditemukan baik pada hewan penggerak maupun manusia (Treuting *et al.*, 2017).

2.3.2 Fisiologi Limpa

Limpa merupakan organ yang sangat tervaskularisasi yang berfungsi menyimpan dan menyaring darah, dan dapat menyimpan sekitar 20%

dari seluruh volume darah. Empat hingga lima persen dari curah jantung per menit melewati limpa dan dapat mencapai 200–300 mL/100 g jaringan limpa. Pada orang dewasa, volume darah harian yang mengalir melalui limpa dapat mencapai 250 L; 10% aliran darah langsung masuk ke vena kolateral setelah melewati korda limpa, dan 90% aliran darah masuk ke pulpa merah, kemudian perlahan mengalir kembali ke vena limpa. Ukuran limpa tidak sama. Kapasitas penyimpanan darah bervariasi dari puluhan ml hingga ribuan ml, dengan rata-rata 150–200 mL. Dalam kondisi patologis, seperti limpa yang membesar akibat hipertensi portal, jumlah volume darah yang tersimpan dapat meningkat hingga sepuluh kali lipat, yang sebagian dapat mengurangi tekanan pembuluh darah di sekitar kardia dan mengurangi kemungkinan perdarahan saluran cerna bagian atas. Filter sel darah merah oleh limpa bersifat selektif. Sel darah merah yang tua atau rusak dan partikel asing difagositosis dan dikeluarkan oleh fagosit di sinus limpa dan korda limpa (Ouyang *et al.*, 2021).

Limpa juga merupakan organ penting penghancur sel darah dan hematopoietik. Pada masa fetus, terutama pada bulan ke-2 hingga ke-5, limpa merupakan salah satu organ hematopoiesis ekstrameduler; setelah bulan ke-5, fungsi hematopoiesis melemah. Setelah hematopoiesis, sel induk hematopoietik berubah menjadi keadaan dorman. Setelah lahir, hanya limfosit dan monosit yang diproduksi di limpa. Namun, di bawah tekanan atau kondisi patologis, seperti kehilangan darah dalam jumlah besar, hemolisis, talasemia berat, atau mielofibrosis, limpa dapat memulihkan fungsi hematopoietiknya lagi. Limpa juga dapat menghancurkan sel darah, yang merupakan tempat utama untuk membuang sel darah merah yang menua dan rusak. Ketika limpa membesar, aliran darah melalui limpa menjadi lebih lambat, dari normal 5 menit menjadi 1 jam. Selain itu, fungsi penghancuran sel darah oleh limpa diperkuat, dan bahkan sel darah merah normal pun akan hancur. Pada hipersplenisme, sel retikuloendotelial menjadi

hiperaktif, efek penghancuran sel darah juga meningkat, dan bahkan leukosit dan trombosit pun hancur. Setelah splenektomi, leukosit dan trombosit yang beredar akan meningkat (Lewis *et al.*, 2019; Ouyang *et al.*, 2021).

Sistem retikuloendotelial limpa berkembang dengan baik dan memiliki fungsi imun yang penting. Limpa dapat mengeluarkan beberapa faktor bioaktif, seperti tuftsin, opsonin, properdin, fibronektin, komplemen, siklik adenosin monofosfat (cAMP), siklik guanosin monofosfat (cGMP), asam ribonukleat imun (IRNA), serta faktor sitotoksik endogen. Faktor bioaktif ini dapat meningkatkan fagositosis benda asing dan fungsi penyaji antigen monosit, makrofag, dan sel dendritik. Selain itu, limpa merupakan organ limfoid terbesar dalam tubuh manusia dan merupakan satu-satunya organ limfoid dalam saluran darah, sehingga dapat menghasilkan sejumlah besar limfosit T dan limfosit B. Sel T memainkan fungsi imun seluler tertentu, sedangkan sel B memainkan fungsi imun humoral tertentu (Lewis *et al.*, 2019; Ouyang *et al.*, 2021).

Sebagai filter utama darah, limpa menyaring sel abnormal, patogen, dan produk limbah dari sirkulasi. Secara struktural, limpa terdiri dari dua kompartemen utama, yaitu pulpa merah (red pulp/RP) dan pulpa putih (white pulp/WP), yang dipisahkan oleh zona marginal atau zona perifolikular. Pulpa merah membentuk bagian terbesar dari limpa dan berfungsi menyaring eritrosit tua atau rusak, termasuk yang kehilangan sinyal “*don't eat me*” seperti CD47, melalui kerja makrofag khusus. Di samping itu, pulpa merah juga menjadi tempat utama terjadinya respons imun bawaan dan penyimpanan monosit, trombosit, serta eritrosit (Lewis *et al.*, 2019).

Sementara itu, pulpa putih adalah pusat aktivitas imun adaptif dalam limpa. Pulpa ini tidak memiliki kapsul pembatas seperti kelenjar getah bening dan tersusun atas zona sel T (*T cell zone/TCZ*) yang

mengelilingi arteri sentral (*periarteriolar lymphoid sheath*/PALS) serta zona sel B (*B cell zone*/BCZ) tempat terbentuknya folikel limfoid dan pusat germinal saat terjadi respon imun (Lewis *et al.*, 2019). Sel dendritik (DC), terutama subtipen cDC1 dan cDC2, memainkan peran penting dalam mengaktifkan sel T CD8+ dan CD4+, masing-masing. Sel-sel ini bermigrasi secara aktif di dalam limpa untuk mengantarkan antigen ke area yang sesuai guna menginisiasi respon imun (Ouyang *et al.*, 2021).

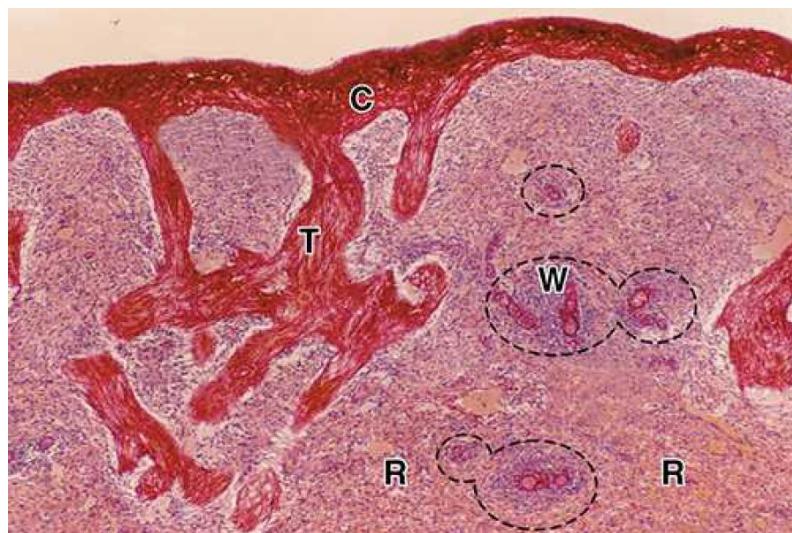
Zona marjinal atau zona perifolikular menjadi penghubung antara pulpa merah dan pulpa putih, tempat sel B marjinal (MZB) dan makrofag khusus menangkap antigen dari darah dan memindahkannya ke pulpa putih. Sel B marjinal juga dapat memproduksi antibodi imunoglobulin M (IgM) secara cepat dalam respon imun yang bergantung atau tidak bergantung pada sel T. Limpa juga menjadi tempat penting dalam mempertahankan toleransi terhadap antigen tubuh sendiri dan respons imun terhadap infeksi sistemik seperti malaria, infeksi bakteri, maupun transfusi sel darah merah asing. Keunikan arsitektur dan dinamika seluler di dalam limpa menjadikannya pusat penting dalam koordinasi respon imun sistemik, terutama terhadap antigen yang beredar melalui darah (Lewis *et al.*, 2019).

Limpa pada hewan penggerak dan manusia memiliki struktur anatomi umum yang serupa, dengan fungsi utama menyaring darah serta berperan dalam mediasi respons imun. Namun, pada hewan penggerak, tidak seperti pada manusia, limpa juga berfungsi sebagai lokasi fisiologis hematopoiesis reaktif sepanjang hidup, yang mampu memberikan respons hematopoietik terhadap berbagai rangsangan, seperti penyakit, infeksi, tumor, perdarahan, maupun anemia (Treuting *et al.*, 2017).

2.3.3 Histologi Limpa

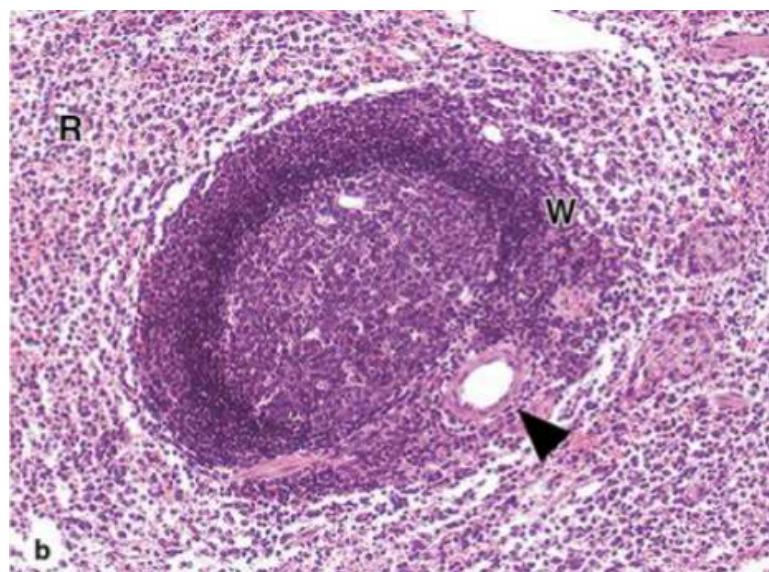
2.3.3.1 Histologi Limpa Manusia

Secara histologis, limpa tersusun atas jaringan retikular yang didominasi oleh sel retikulosit, disertai keberadaan limfosit dalam jumlah besar, berbagai jenis sel darah lainnya, makrofag, serta sel penyaji antigen (APC). Parenkim limpa terbagi menjadi dua komponen utama, yaitu pulpa merah (*red pulp*) dan pulpa putih (*white pulp*). Pulpa putih membentuk massa kecil berupa nodul limfoid periarteriolar, sedangkan pulpa merah tersusun atas sinusoid yang berisi darah serta korda limpa atau korda Billroth. Simpai (*capsula*) limpa berhubungan dengan trabekula yang sebagian membagi bagian dalam organ dan menopang jaringan pulpa tersebut (Gambar 4). Pulpa merah (R) menempati sebagian besar parenkim limpa, sementara pulpa putih (W) terdapat dalam area yang lebih terbatas, terutama di sekitar arteriol sentral (Gambar 2.4) (Mescher, 2023).



Gambar 2.4 Histologi Limpa (Perbesaran 20x) (Mescher, 2023).

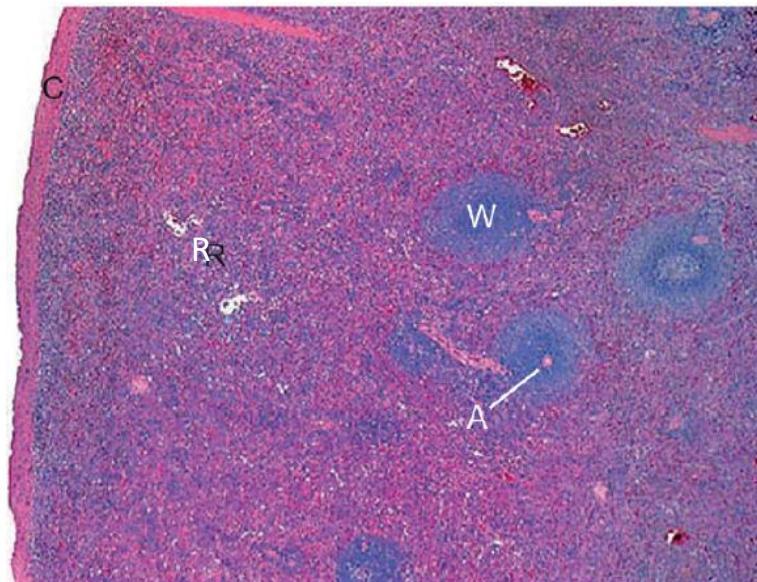
Gambar 2.5 (a) potongan longitudinal dari pulpa putih (W) pada PALS (periarteriolar lymphoid sheath) yang mengelilingi arteriol sentral (ditunjukkan oleh kepala panah). Di sekitar PALS terdapat banyak pulpa merah (R). (b) Sebuah nodul besar dengan pusat germinal terbentuk di dalam PALS, dan arteriol sentral (ditunjukkan oleh kepala panah) terdorong ke tepi nodul. Sinus-sinus vaskular kecil dapat terlihat di batas antara pulpa putih (W) dan pulpa merah (R) (Mescher, 2023).



Gambar 2.5 Pulpa Putih (*White Pulp*) (Perbesaran 20x; pewarnaan H&E) (Mescher, 2023).

Gambar 2.6 (a) Pulpa merah limpa tersusun atas sinusoid (S) dan korda limpa (C), yang keduanya mengandung berbagai jenis sel darah. Korda limpa, yang dikenal sebagai korda Billroth, merupakan jaringan retikular yang kaya akan makrofag dan limfosit. (b) Pada perbesaran yang lebih tinggi, tampak bahwa sinusoid (S) dilapisi oleh sel-sel endotel (ditunjukkan oleh tanda panah) dengan inti besar yang menonjol ke arah lumen sinusoid. Sel endotel khas ini disebut *stave cells* dan memiliki karakteristik khusus yang berperan dalam proses pemisahan sel

darah merah yang masih sehat dari sel darah merah yang telah menua (*effete*) di dalam korda limpa (C) (Mescher, 2023).



Gambar 2.6 Pulpa Merah (*Red Pulp*) (R). (Perbesaran 10 \times ; pewarnaan H&E) (Treuting *et al.*, 2017).

Sebagaimana organ lain yang berperan dalam pemrosesan darah, sistem mikrovaskular limpa memiliki peranan yang sangat penting. Arteri lienalis bercabang di daerah hilus dan membentuk arteri trabekularis berukuran kecil yang berjalan di dalam jaringan ikat trabekula. Selanjutnya, pembuluh darah tersebut keluar dari trabekula dan memasuki parenkim limpa sebagai arteriol yang diselubungi oleh lapisan limfosit T, yang dikenal sebagai selubung limfoid periarteriolar (PALS), dan merupakan bagian dari pulpa putih. Karena keberadaan PALS, pembuluh ini disebut sebagai arteriol sentral. Selama perjalannya di dalam parenkim, PALS dapat menerima infiltrasi sejumlah besar limfosit, terutama sel B, sehingga membentuk nodul limfoid. Pada nodul tersebut, arteriol terletak

secara eksentrik, namun tetap disebut sebagai arteriol sentral. Sepanjang lintasannya melalui pulpa, arteriol sentral memberikan cabang-cabang kecil yang mensuplai jaringan limfoid di sekitarnya. Di sekitar nodul limfoid terdapat zona marginal yang tersusun atas banyak sinus darah dan jaringan limfoid. Zona ini mengandung limfosit, makrofag dalam jumlah besar, serta berbagai antigen, sehingga memiliki peran penting dalam fungsi imunologis limpa (Mescher, 2023).

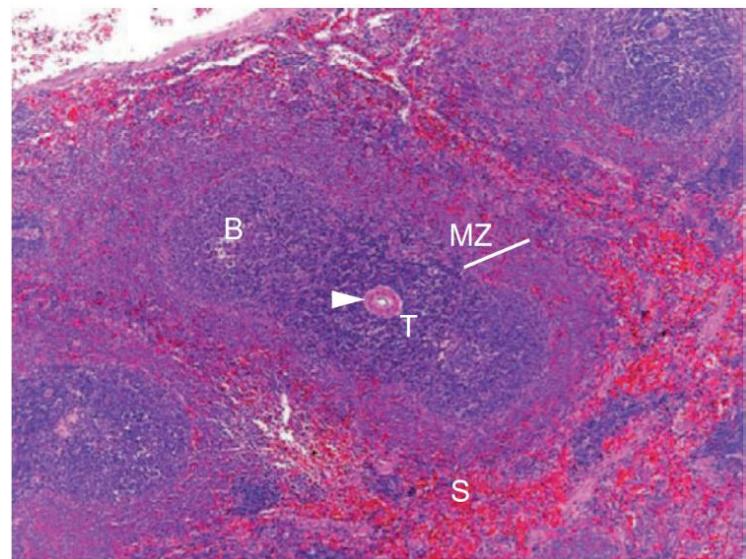
Setelah keluar dari pulpa putih, selubung limfosit perlahan menipis dan arteriol sentral bercabang membentuk arteriol penisili yang lurus. Sejumlah kapiler yang berasal dari arteriol penisili ini diselubungi oleh sel retikular makrofag dan limfosit dengan makna fungsional yang belum jelas (Mescher, 2023).

Pulpa merah tersusun hampir sepenuhnya dari korda limpa dan sinus vena. Korda limpa terdiri atas jaringan sel-sel retikular atau serat-serat retikular yang menunjang limfosit B dan T, makrofag, sel plasma, dan banyak sel darah (eritrosit, trombosit, granulosit). Korda limpa dipisahkan oleh sinusoid lebar yang tidak beraturan. Sel-sel endotel yang panjang (disebut *stave cell*) melapisi sinusoid limpa, yang tersusun sejajar dengan aliran darah sinusoid. Sel-sel ini dibungkus dengan serat retikular dalam arah melintang, mirip pengikat gentong (Mescher, 2023).

Sinusoid limpa yang sangat permeabel dikelilingi oleh lamina basal yang tidak utuh. Ruang antarsel endotel sinusoid limpa berukuran 2-3 μm atau lebih kecil dan hanya sel fleksibel yang mampu lewat dengan gampang dari korda pulpa merah ke dalam lumen sinusoid. Karena lumen sinusoid limpa sering terisi darah dan sangat kecil serta karena korda limpa terinfiltasi oleh sel darah merah, pembedaan mikroskopik antara korda limpa dan sinusoid sering kali sulit (Mescher, 2023).

2.3.3.2 Histologi Limpa Tikus

Limpa pada tikus dan manusia terdiri atas dua zona utama, yaitu pulpa merah dan pulpa putih, yang dapat dibedakan secara makroskopis pada potongan melintang. Perbandingan pulpa merah terhadap pulpa putih pada manusia lebih rendah dibandingkan pada hewan pengerat karena pulpa putih menempati proporsi volume limpa yang lebih besar pada manusia. Pada (Gambar 2.7) menunjukkan zona marginal (MZ, garis). Daerah sel B (B) dan sel T (T), sinusoid pulpa merah (S), serta arteriola (penanda panah) juga ditunjukkan. Pulpa merah berperan sebagai lokasi utama penyaringan darah pada kedua spesies, dengan jaringan sinusoid dan korda yang bertindak sebagai filter. Sinusoid dilapisi oleh sel endotel khusus (sel litoral) yang pada manusia mengekspresikan CD8, sedangkan pada hewan pengerat keberadaannya telah diduga namun belum terkarakterisasi secara menyeluruh. Korda pulpa merah mengandung makrofag yang berperan dalam memantau dan mengeliminasi debris, mikroorganisme, dan eritrosit yang rusak dari aliran darah, serta disertai fibroblas, limfosit (dominan CD8+), dan sel plasma dalam jumlah kecil (Treuting *et al.*, 2017).



Gambar 2.7 Histologi Limpa Tikus (Treuting *et al.*, 2017).

Pada hewan penggerat, pulpa merah merupakan lokasi normal hematopoiesis tingkat rendah dan menjadi pusat utama hematopoiesis reaktif (EMH) yang meliputi hiperplasia mieloid, eritroid, dan megakariositik. Aktivitas EMH pada manusia umumnya minimal, meski dapat ditemukan fokus kecil pada kondisi reaktif atau splenomegali, serta meningkat pada gangguan patologis sumsum tulang seperti kelainan mieloproliferatif, fibrosis, atau infiltrasi. Pada hewan penggerat, hematopoiesis limpa dapat melibatkan ketiga lini sel dan cenderung menetap sepanjang hidup, bahkan meningkat pada kondisi yang menyebabkan stres sumsum, sementara pigmen melanin dapat ditemukan pada pulpa merah hewan berambut hitam (Treuting *et al.*, 2017).

Pulpa putih pada tikus dan manusia merupakan jaringan limfoid yang mengelilingi arteri atau arteriola dalam bentuk *Periarterial Lymphoid Sheath* (PALS) yang didominasi sel T (utama CD4+ dan CD3+) dan sel dendritik folikular. Daerah ini berasosiasi dengan folikel sel B yang pada hewan penggerat ditandai

penanda CD45R+ dan PAX5+, yang dapat berupa folikel primer (didominasi sel B naif) atau folikel sekunder (memiliki pusat germinal reaktif yang dikelilingi zona mantel). Pulpa putih dikelilingi zona marginal yang terdiri atas sel B monosit dengan sitoplasma pucat dan makrofag zona marginal. Zona marginal pada manusia dan tikus besar lebih menonjol dibanding sebagian besar strain atau stok tikus, meski beberapa strain tikus memiliki zona marginal yang lebih berkembang. Sel B zona marginal sering diekspresikan oleh IgM, dan pada manusia, zona ini lebih berkembang dibanding pada kelenjar limfa normal (Treuting *et al.*, 2017).

Perbedaan histologis antara hewan penggerat dan manusia terletak pada keberadaan sinus marginal yang jelas memisahkan lapisan makrofag metalofilik dari lapisan sel B, yang terlihat dengan mikroskop cahaya pada hewan penggerat, tetapi hanya dapat diidentifikasi melalui pemeriksaan ultrastruktur dan imunohistokimia pada manusia. Zona marginal berkesinambungan dengan zona sel T pada PALS dan folikel sel B, serta pada manusia keduanya dikelilingi zona perifolikular kaya kapiler yang sering tampak kongestif pada pengamatan mikroskop cahaya (Treuting *et al.*, 2017).

2.3.4 Pembesaran Organ Limpa (*Splenomegaly*)

Pembesaran limpa (*splenomegaly*) merupakan manifestasi patologis yang dapat terjadi melalui beragam mekanisme patofisiologis yang berkaitan dengan fungsi limpa sebagai organ filtrasi darah dan pusat respons imun. Secara umum, dapat diidentifikasi empat mekanisme utama yang menyebabkan peningkatan massa limpa, yaitu kongesti vaskular, hiperplasia jaringan limfoid akibat stimulasi imun, infiltrasi seluler atau deposisi substansi patologis, serta perubahan inflamasi dan stres oksidatif. Limpa merupakan organ yang sangat responsif terhadap

perubahan hemodinamik maupun aktivasi imun, sehingga cenderung mengalami pembesaran pada berbagai kondisi toksikologis (Kumar *et al.*, 2022).

Mekanisme pertama adalah kongesti vaskular, yang terjadi ketika terdapat peningkatan tekanan atau hambatan aliran dalam sistem vena porta atau limpa, menyebabkan distensi sinusoid dan akumulasi eritrosit. Kongesti kronis memicu peningkatan volume pulpa merah akibat pelebaran sinusoid dan peningkatan beban darah, yang dapat berujung pada *congestive splenomegaly* (Kumar *et al.*, 2022). Dalam konteks toksikologi, agen hepatotoksik seperti paracetamol dapat menyebabkan disfungsi hepatoseluler yang memengaruhi hemodinamika sistem portal, sehingga secara tidak langsung memicu kongesti limpa. Temuan kongesti limpa terkait toksisitas paracetamol dilaporkan pada model hewan oleh Yoon *et al.* (2016), yang menunjukkan peningkatan volume sinusoid dan penumpukan sel darah sebagai konsekuensi dari gangguan aliran portal (Yoon *et al.*, 2016).

Mekanisme kedua adalah hiperplasia limfoid sebagai respons terhadap stimulasi antigenik atau toksik. Stimulasi antigen berulang, paparan radikal bebas, atau *distress* jaringan dapat memicu aktivasi sel B dan T serta pembentukan *germinal centers*, meningkatkan proliferasi folikel limfoid dan massa pulpa putih. Paparan stimulasi imun kronis meningkatkan aktivitas proliferatif di folikel limfoid, menghasilkan pembesaran limpa melalui perluasan area pulpa putih. Paparan obat tertentu, termasuk analgesik dan antiinflamasi, dapat memicu aktivasi imun sekunder dan hiperplasia limfoid pada limpa hewan coba (Kumar *et al.*, 2022).

Mekanisme ketiga adalah infiltrasi seluler atau deposisi substansi patologis, termasuk makrofag teraktivasi, debris seluler, produk oksidasi lipid, dan hemosiderin. Pada keadaan paparan toksik, peningkatan kematian sel dan fagositosis di jaringan periferal dapat

meningkatkan migrasi dan akumulasi makrofag ke dalam limpa, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan massa organ (*Kumar et al.*, 2022). Sejalan dengan ini, Jaeschke (2016) melaporkan bahwa metabolit toksik paracetamol seperti NAPQI dapat meningkatkan fagositosis sistemik serta memicu ekspansi jaringan retikuloendotelial termasuk limpa (Jaeschke *et al.*, 2021).

Mekanisme keempat adalah inflamasi sistemik dan stres oksidatif, yang dapat menyebabkan pembesaran limpa melalui aktivasi jalur sinyal inflamasi seperti NF- κ B, peningkatan produksi sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1 β , IL-6), serta ekspansi sel imun efektor. Aktivasi NF- κ B merupakan proses sentral dalam inflamasi toksikologis dan berperan dalam proliferasi sel imun, peningkatan infiltrasi sel *monocytic*, serta remodeling jaringan limpa. Inflamasi sistemik akibat stres oksidatif dapat meningkatkan massa jaringan limfoid melalui proliferasi sel imun dan infiltrasi makrofag (Wang *et al.*, 2017).

2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan spesies yang telah lama digunakan sebagai hewan model dalam penelitian biomedis. Tikus ini berasal dari Asia dan mulai tersebar ke Eropa sekitar tahun 1700-an setelah sebelumnya tidak ditemukan selama ribuan tahun. Tikus jenis ini memiliki sifat agresif dan mampu menggantikan dominasi *Rattus rattus* di habitat lamanya. Tikus laboratorium modern merupakan hasil domestikasi dari *R. norvegicus*, dengan strain albino yang mulai dibudidayakan sejak akhir 1800-an hingga awal 1900-an untuk tujuan studi neuroanatomik dan biomedis di Amerika Serikat dan Eropa. Karena sering ditangani dan dikembangbiakkan secara intensif, tikus-tikus laboratorium menunjukkan berbagai perbedaan biologis dibandingkan dengan tikus liar, seperti ukuran kelenjar adrenal dan preputial yang lebih kecil, kematangan seksual yang lebih awal, siklus reproduksi yang tidak musiman, serta umur yang lebih pendek (Sharp & Villano, 2012).



Gambar 2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) (Sharp & Villano, 2012).

Secara biologis, tikus merupakan hewan nokturnal yang aktif pada malam hari. Oleh karena itu, dalam pengaturan penelitian, siklus cahaya sering kali dibalik agar aktivitas puncak tikus bertepatan dengan waktu kerja peneliti. Meskipun terdapat variasi antar strain, tikus umumnya bersifat tidak agresif dan cenderung menghindari konfrontasi. Tikus jantan lebih agresif dibandingkan betina, dan jika menyerang, biasanya hanya menggigit sekali. Tikus merasa nyaman di ruang sempit dan gelap, dan perilaku ini sering dimanfaatkan dalam pengaturan eksperimen. Seperti rodensia lainnya, tikus bersifat koprofagus, yaitu memakan kembali feses lunak yang mengandung sisa-sisa makanan dan metabolit. Kebiasaan ini penting untuk diperhatikan karena dapat memengaruhi hasil penelitian, terutama yang berkaitan dengan metabolisme obat dan kimia darah (Sharp & Villano, 2012).

Dalam konteks histopatologi limpa, diketahui bahwa hematopoiesis pada tikus dewasa terutama terjadi di limpa saat terdapat infeksi atau kondisi patologis lainnya. Pada tikus yang dipelihara dalam kondisi bebas patogen, aktivitas hematopoiesis limpa sangat minimal. Selain itu, makrofag yang mengandung hemosiderin juga sering ditemukan, khususnya pada tikus betina yang digunakan untuk pembiakan. Hematopoiesis normal secara fisiologis terjadi sepanjang hidup di tulang panjang. Oleh karena itu, pemeriksaan histopatologis limpa tikus penting dilakukan untuk mengamati perubahan struktur maupun aktivitas hematopoiesis yang mungkin

dipengaruhi oleh perlakuan atau kondisi lingkungan eksperimental (Sharp & Villano, 2012).

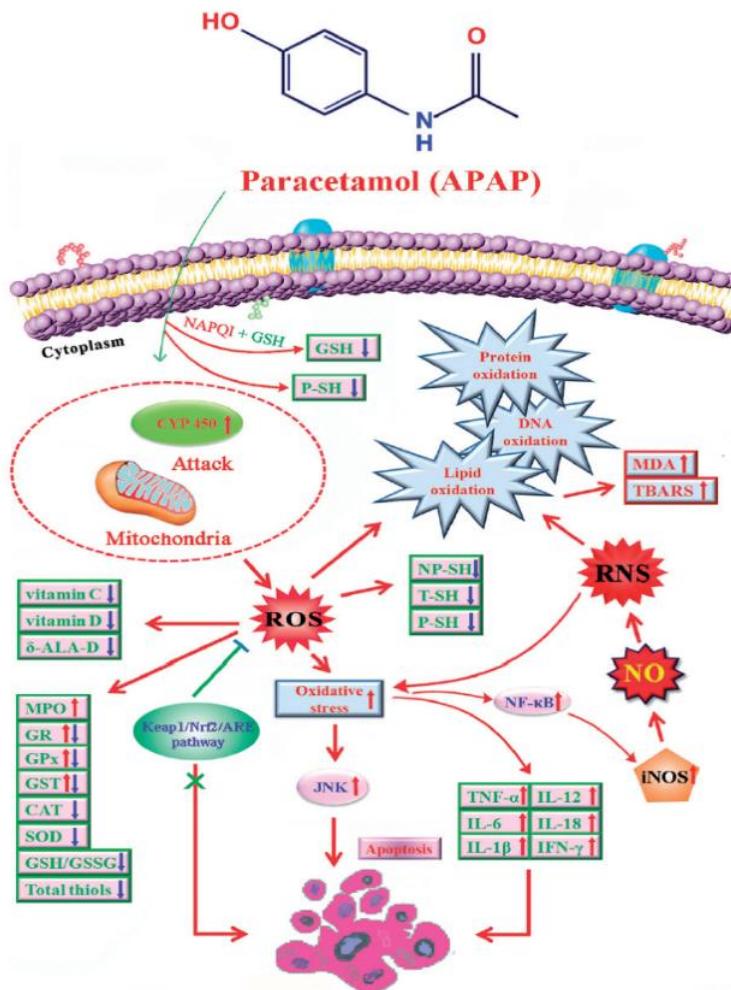
2.5 Paracetamol-Induced Oxydative Stress dan Antioksidan

Parasetamol (*acetaminophen/APAP*) merupakan obat analgesik-antipiretik yang banyak digunakan secara luas karena efektivitas dan keamanannya dalam dosis terapi. Namun, pada dosis tinggi atau dalam kondisi tertentu seperti penggunaan kronis atau individu dengan metabolisme hati yang rentan, parasetamol dapat menjadi sangat toksik. Toksisitas parasetamol terutama dimediasi oleh proses metabolisme di hati melalui enzim sitokrom P450 (terutama CYP2E1, juga CYP1A2 dan CYP3A4) yang mengubah sebagian kecil parasetamol menjadi senyawa reaktif bernama *N-acetyl-p-benzoquinone imine* (NAPQI). Di bawah kondisi normal, NAPQI segera dinetralkan oleh cadangan glutation (GSH) di hati, namun pada kasus overdosis atau kehabisan GSH, NAPQI akan terakumulasi dan mulai berikatan kovalen dengan protein seluler. Ikatan ini menandai awal dari kerusakan oksidatif, gangguan fungsi mitokondria, serta inisiasi kematian sel (Canayakin *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2017).

NAPQI yang terbentuk dalam jumlah berlebih memicu terjadinya stres oksidatif dengan memicu produksi radikal bebas berupa *reactive oxygen species* (ROS) seperti superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksil radikal ($\bullet OH$) (Okiljević *et al.*, 2024). Selain itu, parasetamol juga menyebabkan perubahan pada produksi *reactive nitrogen species* (RNS), seperti *nitric oxide* (NO) dan *peroksinitrit* ($ONOO^-$). Ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan kemampuan sistem antioksidan untuk menetralisirnya menciptakan kondisi yang disebut stres oksidatif. Hal ini mengakibatkan kerusakan struktur lipid membran (melalui peroksidasi lipid), fragmentasi DNA, oksidasi protein, dan akhirnya kematian sel melalui nekrosis atau apoptosis. Kerusakan ini tidak hanya terbatas pada hati, tetapi juga bisa mengenai ginjal, limpa, dan jaringan lain, tergantung pada tingkat

dan durasi paparan serta kapasitas pertahanan seluler dari jaringan tersebut (Athira *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2017).

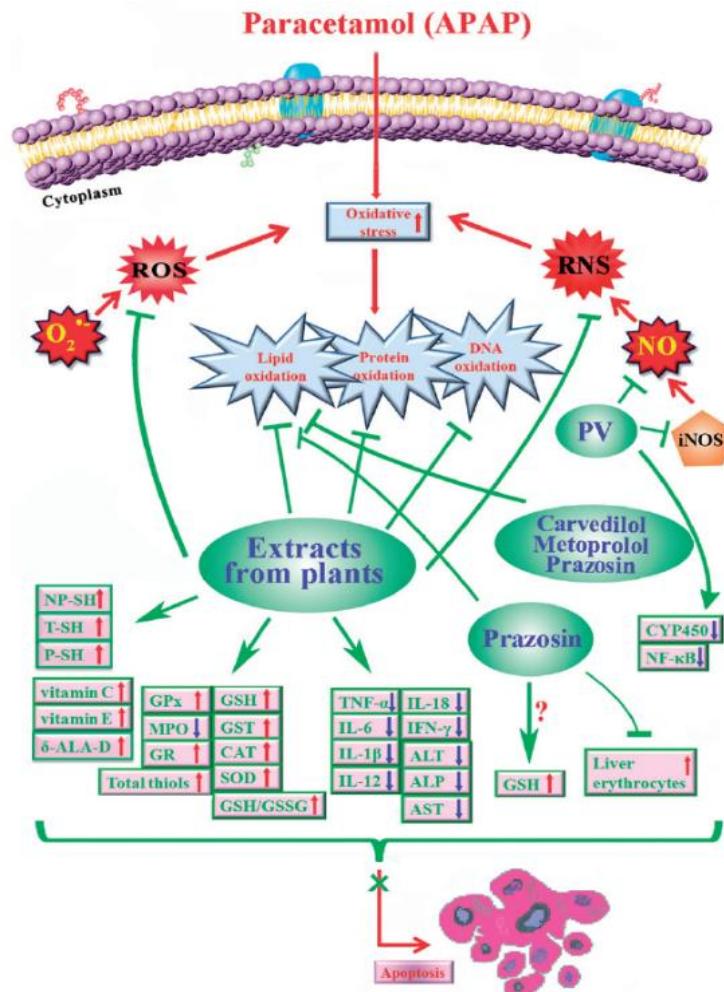
Secara keseluruhan, ini mendukung bahwa stres oksidatif memainkan peran kunci dalam toksisitas parasetamol, dan menjadi dasar dalam pengembangan strategi terapi dan pencegahan kerusakan organ. NAPQI sebagai metabolit toksik utama dari parasetamol tidak hanya merusak struktur dan fungsi sel secara langsung, tetapi juga memicu kaskade sinyal selular yang memperparah kerusakan, seperti aktivasi jalur inflamasi, mitokondrial permeability transition, dan pelepasan sitokin proinflamasi. Oleh karena itu, terapi yang ditujukan untuk mengurangi stres oksidatif, seperti pemberian antioksidan (misalnya *N-acetylcysteine*, vitamin E, flavonoid tanaman, atau silymarin), terbukti efektif dalam menurunkan keparahan kerusakan hati dan organ lain akibat overdosis parasetamol (Gomaa, 2018). Pemahaman terhadap jalur stres oksidatif ini juga membuka peluang dalam riset farmakologi untuk mengembangkan senyawa-senyawa protektif yang dapat digunakan baik sebagai preventif maupun kuratif dalam kasus keracunan parasetamol (Wang *et al.*, 2017).



Gambar 2.9 Mekanisme Stres Oksidatif yang Diinduksi Parasetamol (Wang *et al.*, 2017).

Mekanisme perlindungan antioksidan dapat berlangsung melalui berbagai cara. Salah satunya adalah dengan menyumbangkan elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal tersebut dinetralkan tanpa menyebabkan kerusakan pada molekul penting tubuh. Antioksidan juga mampu menginduksi atau mempertahankan aktivitas enzim antioksidan endogen, seperti superokida dismutase (SOD), glutation peroksidase (GPx), katalase (CAT), dan glutation reduktase (GR). Enzim-enzim ini berperan dalam konversi radikal superokida menjadi bentuk yang lebih tidak reaktif atau dalam regenerasi GSH dari bentuk teroksidasi. Beberapa antioksidan bahkan bekerja pada

tingkat genetik dengan mengaktifkan faktor transkripsi Nrf2, yang mengatur ekspresi gen antioksidan dan detoksifikasi fase II (Wang *et al.*, 2017).



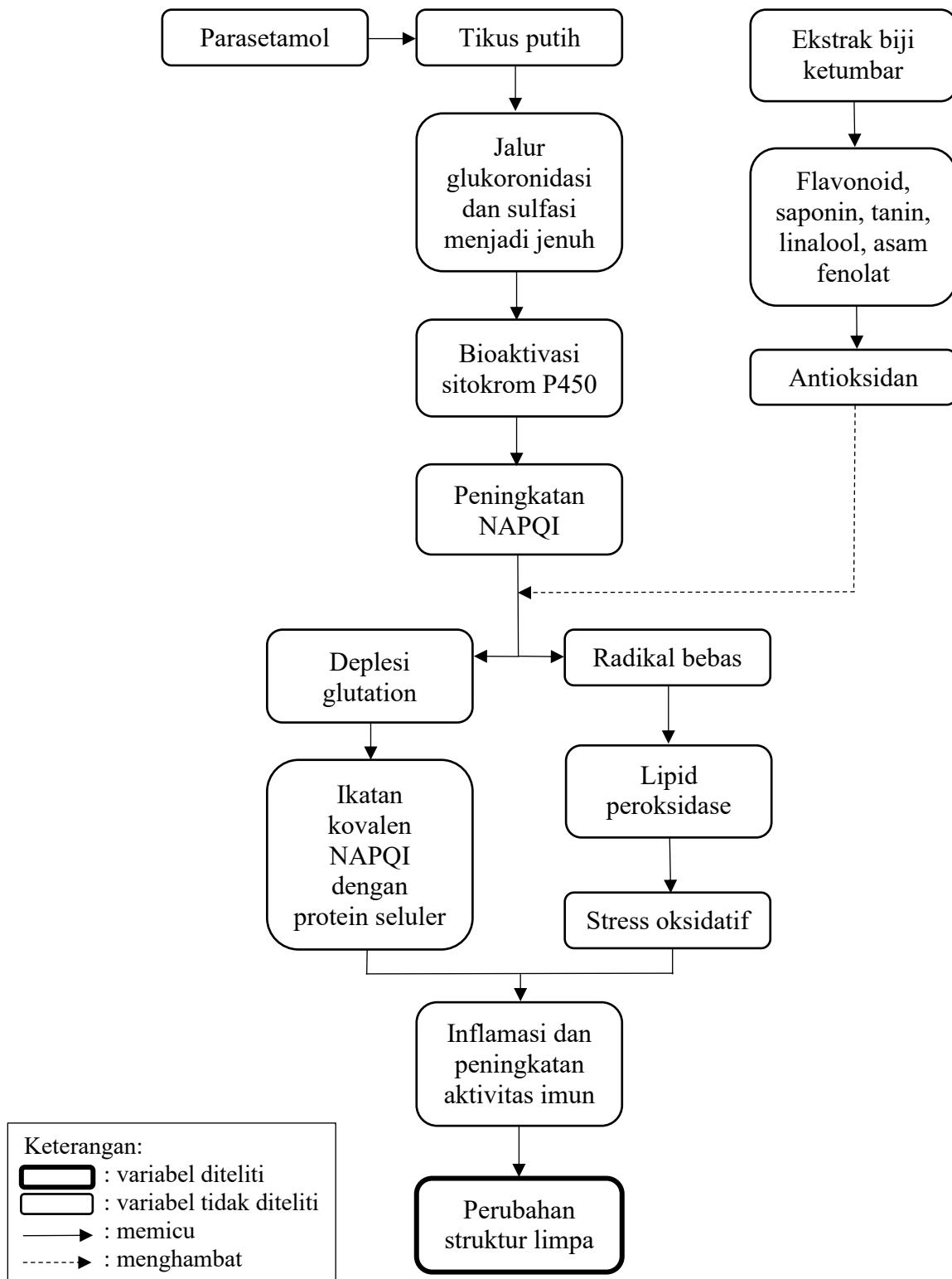
Gambar 2.10 Mekanisme Protektif Terhadap Stres Oksidatif oleh Antioksidan (Wang *et al.*, 2017).

Berbagai studi menunjukkan bahwa penggunaan antioksidan secara *in vivo* maupun *in vitro* mampu mengurangi biomarker stres oksidatif, seperti kadar malondialdeida (MDA), serta meningkatkan kadar GSH dan aktivitas enzim-enzim pelindung. Contohnya, silymarin, *N-acetylcysteine* (NAC), vitamin C dan E, serta senyawa tanaman seperti saponarin dan ekstrak ketumbar, terbukti mampu menghambat peroksidasi lipid, mempertahankan

GSH, dan mencegah apoptosis pada jaringan hati dan ginjal yang terpapar parasetamol dosis toksik. NAC khususnya bekerja dengan mengisi ulang cadangan GSH secara langsung karena merupakan prekursor sistein, asam amino penting dalam biosintesis glutation (Wang *et al.*, 2017).

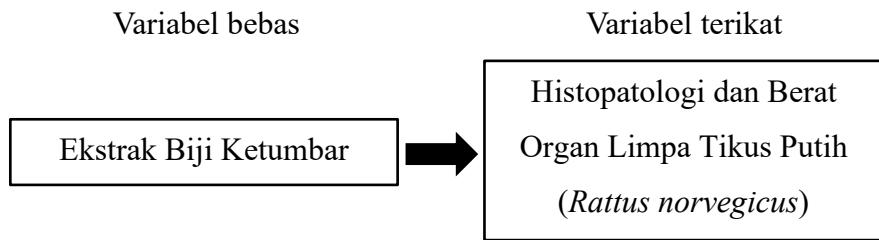
Dengan menekan pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 yang diinduksi oleh stres oksidatif, antioksidan juga mengurangi efek lanjutan dari inflamasi yang memperparah kerusakan jaringan (Wang *et al.*, 2017). Dalam berbagai model hewan yang ditinjau, baik pada tikus maupun kelinci, kombinasi parasetamol dan antioksidan menghasilkan tingkat kerusakan hati dan ginjal yang jauh lebih ringan dibandingkan kelompok yang hanya diberi parasetamol (Okiljević *et al.*, 2024)

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.11 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.12 Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis Penelitian

- a) H₀: Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap histopatologi dan berat organ limpa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang diinduksi parasetamol.
- b) H₁: Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap histopatologi dan berat organ limpa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang diinduksi parasetamol.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif *true experimental* dengan *post test only control group design*. Desain penelitian ini memungkinkan peneliti untuk membandingkan kelompok yang diberi intervensi dengan kelompok kontrol sehingga didapatkan hasil yang objektif mengenai pengaruh pemberian ekstrak biji ketumbar terhadap histopatologi limpa tikus putih.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada periode September hingga November 2025. Pemeliharaan serta pemberian perlakuan pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dilakukan di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Proses pembuatan ekstrak dilaksanakan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Sementara itu, pembuatan dan evaluasi preparat histopatologi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Balai Veteriner serta Laboratorium Histologi–Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini terdiri atas tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley dengan berat badan 200–300 gram dan rentang usia 8–12 minggu. Pemilihan tikus jantan didasarkan pada kondisi hormonal yang relatif lebih stabil dibandingkan tikus betina. Selain itu, tikus pada rentang usia tersebut telah memiliki sistem imun yang

berkembang dengan baik serta respons fisiologis yang stabil, sehingga dinilai lebih representatif dan konsisten untuk penelitian yang berkaitan dengan penyakit maupun intervensi terapeutik. Tikus putih diperoleh dari peternakan Tikusputih.id yang berlokasi di Garut, Jawa Barat.

3.3.2 Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini, sampel dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan. Penentuan besar sampel dilakukan menggunakan rumus Federer. Rumus tersebut digunakan untuk menghitung kebutuhan jumlah sampel pada penelitian eksperimental dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), yaitu:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah pengulangan atau jumlah sampel setiap kelompok

Maka:

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \approx 5$$

Maka, jumlah sampel yang diperlukan adalah 5 ekor tikus untuk setiap kelompok atau 25 ekor tikus untuk 5 kelompok. Untuk menghindari terjadinya *drop out* selama proses penelitian berlangsung, dilakukan koreksi besar sampel dengan rumus:

$$N = \frac{n}{1-f}$$

Keterangan:

N = besar sampel koreksi

n = besar sampel awal

f = perkiraan proporsi *drop out* ($10\% = 0,1$)

Dengan menggunakan rumus di atas, dilakukan penghitungan yang dapat dijabarkan sebagai berikut:

$$N = \frac{5}{1 - 0,10}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,56 \approx 6$$

Setelah dilakukan koreksi besar sampel, didapatkan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 ekor tikus dalam setiap kelompok atau 30 ekor tikus untuk 5 kelompok.

3.4 Kelompok Perlakuan

- a. Kelompok Kontrol Normal (KN) yaitu jumlah kelompok tikus yang tidak diinduksi parasetamol dan tidak diberi ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.)
- b. Kelompok Kontrol Negatif (K-) yaitu kelompok tikus yang diinduksi parasetamol 0,36 mg/grBB/hari selama 10 hari dan tidak diberi ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.)
- c. Kelompok Perlakuan 1 (P1) yaitu kelompok tikus yang diinduksi parasetamol 0,36 mg/grBB/hari dan diberikan ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) 62,5 mg/kgBB/hari selama 10 hari.
- d. Kelompok Perlakuan 2 (P2) yaitu kelompok tikus yang diinduksi parasetamol 0,36 mg/grBB/hari dan diberikan ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) 125 mg/kgBB/hari selama 10 hari.
- e. Kelompok Perlakuan 3 (P3) yaitu kelompok tikus yang diinduksi parasetamol 0,36 mg/grBB/hari dan diberikan ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) 250 mg/kgBB/hari selama 10 hari.

3.5 Identifikasi Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) serta parasetamol terhadap limpa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi dan berat organ limpa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley yang diinduksi parasetamol.

3.6 Kriteria Sampel

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik *simple random sampling*, yaitu pemilihan sampel secara acak sederhana. Metode ini digunakan karena seluruh anggota populasi tikus putih jantan diperoleh melalui prosedur yang sama dan memiliki karakteristik yang relatif homogen. Sampel dipilih dari total 30 ekor tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi.

3.6.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Berat badan 200-300gram
- d. Usia tikus 8-12 minggu
- e. Tidak memiliki kelainan anatomi
- f. Kesehatan umum baik (bergerak aktif, mata jernih, rambut tidak kusam, rontok, dan botak)

3.6.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus tampak sakit (gerak tidak aktif, tidak mau makan, rambut kusam, rontok dan botak) terdapat penurunan berat badan secara drastis lebih dari 10% setelah masa adaptasi di *animal house*.

- b. Mati selama masa perlakuan.

3.7 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.7.1 Instrumen Penelitian

- a. Neraca analitik
- b. Botol minum tikus
- c. Tempat makan tikus
- d. *Spuit* 1cc, 3cc, 5cc, dan 10cc
- e. *Minor set*
- f. Sarung tangan steril *disposable*
- g. Kandang tikus
- h. Sonde
- i. Kapas alkohol
- j. Mikroskop

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley
- b. Pakan standar untuk tikus putih
- c. Sekam
- d. Ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.)
- e. Parasetamol sirup 120mg/5ml
- f. Kloroform
- g. Sampel limpa tikus putih

3.7.3 Alat Pembuatan Preparat Histologi

- a. *Object glass*
- b. *Deck glass*
- c. *Tissue cassette*
- d. *Rotary microtome*
- e. *Oven*
- f. *Waterbath*

- g. *Platening table*
- h. *Autotechnicome processor*
- i. *Staining jar*
- j. *Staining rack*
- k. Kertas saring
- l. *Histoplast*
- m. *Paraffin dispenser*

3.8 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional.

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak Biji Ketumbar (<i>Coriandrum sativum L.</i>)	Sediaan yang didapat dari ekstraksi biji ketumbar (<i>Coriandrum sativum L.</i>)	Ditimbang sesuai dosis yang diberikan pada tikus yaitu: Ekstrak biji ketumbar (<i>Coriandrum sativum L.</i>) diberikan dengan dosis bertingkat sebanyak 62,2mg/kgBB/hari	Neraca analitik dan spuit 3 cc	Setengah dosis efektif, dosis efektif, dan dua kali dosis efektif ekstrak biji ketumbar (<i>Coriandrum sativum L.</i>)	Ordinal
Laboratorium Botani FMIPA Unila.	62,2mg/kgBB/hari 125mg/kgBB/hari 250mg/kgBB/hari (Ifora et al., 2021)				
Gambaran Mikroskopis Limpa Hostologi Tikus Putih Jantan (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur Sprague Dawley	Perubahan n hostologi jaringan yang terjadi akibat induksi parasetamol ditandai dengan proliferasi folikel deplesi folikel limfoid, dan kongesti sinusoid.	Gambaran perubahan histologis jaringan limpa tikus putih jantan (<i>Rattus norvegicus</i>) terjadi melalui dievaluasi pengamatan preparat histopatologi menggunakan mikroskop pada lima lapang pandang dengan perbesaran 200×. Pada setiap lapang pandang dilakukan penilaian terhadap perubahan struktur pulpa putih (<i>white pulp</i>) serta perubahan selularitas jaringan limpa	Mikroskop cahaya	Deplesi folikel: 0 = Normal, PALS (<i>Periarterial Lymphoid Sheath</i>) jelas, batas pulpa putih-merah tegas, <i>germinal center</i> jelas. 1 = Atrofi ringan (<25%), PALS (<i>Periarterial Lymphoid Sheath</i>) sedikit menipis, batas pulpa putih-merah cukup jelas, <i>germinal center</i> jelas. 2 = Atrofi sedang (25-50%), PALS (<i>Periarterial Lymphoid Sheath</i>) menipis, batas pulpa putih-merah kabur sebagian. 3 = Atrofi berat (>50%), deplesi folikel, PALS (<i>Periarterial Lymphoid Sheath</i>) tidak tampak, batas pulpa putih-merah tidak jelas. (Rabei, 2011)	Numerik

Tabel 3.2 Definisi Operasional (lanjutan).

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Berat Organ Limpa Tikus Putih Jantan (<i>Rattus norvegicus</i>)	Perubahan berat organ limpa akibat induksi parasetamol Galur Sprague Dawley	Ditimbang langsung menggunakan timbangan digital setelah organ dipisahkan dari tubuh hewan coba.	Timbang an digital presisi (0,01g)	Angka berat limpa dalam satuan gram (g) untuk setiap hewan coba.	Numerik

3.9 Prosedur dan Alur Penelitian

3.9.1 Pembuatan Ekstrak Biji Ketumbar

Biji ketumbar memiliki kandungan zat aktif yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Proses ekstraksi biji ketumbar dilakukan untuk mendapatkan zat aktif yang terkandung di dalamnya untuk selanjutnya diberikan kepada tikus putih untuk diamati efek protektifnya terhadap organ limpa. Proses pembuatan ekstrak dimulai dengan menjemur biji ketumbar yang telah dikumpulkan sebanyak 1 kg untuk mengurangi kadar air di dalam biji. Penjemuran dilakukan di luar ruangan dengan memanfaatkan sinar matahari. Biji ketumbar kemudian dijemur hingga benar-benar kering. Setelah kering, biji ketumbar digiling sehingga didapatkan simplisia biji ketumbar (Putri *et al.*, 2023).

Biji ketumbar kering sebanyak 500 gram dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Selanjutnya, biji ketumbar dikeringkan di lemari pengering selama 1-3 hari hingga mencapai kondisi kering sempurna. Biji ketumbar yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan penggiling sampai halus. Bubuk biji ketumbar selanjutnya dicampurkan dengan etanol 96% dalam wadah tertutup dan didiamkan selama 24-72jam pada suhu ruang hingga tercampur secara homogen. Setelah itu, larutan disaring menggunakan kain saring untuk memisahkan maserat dari residu.

Proses maserasi ini diulangi sebanyak dua kali untuk memperoleh hasil ekstrak yang maksimal. Seluruh maserat dari proses maserasi pertama dan kedua kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-60°C hingga diperoleh ekstrak etanol kental dari biji ketumbar (Putri *et al.*, 2023).

Ekstrak kental selanjutnya diencerkan dengan akuades dan diberikan kepada tikus putih sesuai berat badannya secara oral dengan menggunakan sonde setiap 1 kali sehari selama 10 hari, 2 jam setelah pemberian parasetamol. Ekstrak biji ketumbar diberikan kepada 3 kelompok perlakuan (P1-P3) dengan dosis bertingkat, 62,5 mg/kgBB, 125 mg/kgBB, dan 250 mg/kgBB.

3.9.2 Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi adalah proses adaptasi hewan coba setelah dipindahkan ke tempat baru. Tikus putih sebagaimana makhluk hidup lainnya dapat mengalami stres, termasuk saat dipindahkan ke lingkungan yang baru. Aklimatisasi dalam penelitian ini sangat penting untuk memberikan waktu bagi tikus putih agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru dan juga mengurangi stres setelah proses pemindahan, sehingga mengurangi risiko kematian (Arts *et al.*, 2014). Proses aklimatisasi dilakukan selama 10 hari di *animal house* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Selama periode tersebut, tikus putih tidak mendapatkan perlakuan khusus dan hanya diberikan pakan serta perawatan standar secara *ad libitum* (Handajani, 2021).

Perawatan standar tikus putih meliputi kandang, pakan, minuman, dan sanitasi yang sesuai. Kandang tikus harus memenuhi *minimun floor area*, yaitu untuk tikus dengan berat antara 200-300 gram adalah 148-187 cm² dengan tinggi kandang 14 cm. Ruangan, kandang dan koridor pada kandang hewan coba harus bersih dan terdapat aliran untuk proses pembersihan. Pakan dan minum harus mengandung nutrisi lengkap

untuk memenuhi kebutuhan hewan tersebut serta bebas dari kontaminasi. Selain itu, pakan dan minum harus mudah diakses oleh tikus (Handajani, 2021).

3.9.3 Penghitungan Dosis dan Pemberian Parasetamol

Parasetamol diberikan pada tikus untuk menginduksi kerusakan limpa. Metabolit parasetamol dalam dosis tinggi yang berupa NAPQI bersifat sebagai radikal bebas dan membuat efek inflamasi di sebagian besar organ, tidak terkecuali limpa. Stres oksidatif dan inflamasi yang persisten menimbulkan kerusakan struktur limpa. Dosis parasetamol disesuaikan dengan menggunakan persamaan yang dikemukakan oleh Laurence dan Bacharach (1964).

$$\text{dosis tikus} = \frac{\text{dosis manusia} \times \text{faktor konversi}}{\text{berat badan tikus (gram)}}$$

Dosis maksimum parasetamol untuk manusia adalah 4000mg per hari pada manusia. Faktor konversi manusia ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Sehingga didapatkan sebagai berikut.

$$\text{dosis tikus} = \frac{4000 \times 0,018}{200}$$

$$\text{dosis tikus} = 0,36 \text{ mg/grBB}$$

Maka, volume dosis yang digunakan untuk induksi dengan parasetamol sirup 120mg/5ml dengan berat rata-rata tikus putih 200 gram adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned}\frac{120 \text{ mg}}{72 \text{ mg}} &= \frac{5 \text{ ml}}{x} \\ 120x &= 72 \times 5 \\ x &= \frac{360}{120} \\ x &= 3 \text{ ml}\end{aligned}$$

Maka, volume sirup parasetamol yang dibutuhkan untuk setiap tikus dengan rata-rata berat badan 200 gram adalah 3ml per hari.

3.9.4 Perhitungan Dosis dan Pemberian Ekstrak Biji Ketumbar

Diketahui dari penelitian sebelumnya, dosis ekstrak etanol daun ketumbar yang efektif terhadap evaluasi protektif adalah sebesar 125mg/kgBB/hari (Ifora *et al.*, 2021). Selain itu, penelitian oleh Nugroho (2021) melaporkan bahwa kandungan fitokimia antara biji dan daun ketumbar tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna (Nugroho, 2021). Oleh karena itu, dosis efektif tersebut digunakan sebagai dasar penentuan dosis pada penelitian ini. Dosis pada kelompok perlakuan pertama ditetapkan sebesar setengah dari dosis efektif, kelompok perlakuan kedua menggunakan dosis efektif, sedangkan kelompok perlakuan ketiga diberikan dosis dua kali lipat dari dosis efektif.

- Dosis untuk tiap tikus pada P1

$$\frac{1}{2} \times 125\text{mg} = \frac{62,5\text{mg}}{\text{kgBB}}$$

$$x = \frac{62,5\text{mg/kgBB}}{1000\text{grBB}} \times 200\text{gram} = 12,5\text{mg}$$

- Dosis untuk tiap tikus pada P2

$$1 \times 125\text{mg} = \frac{125\text{mg}}{\text{kgBB}}$$

$$x = \frac{125\text{mg/kgBB}}{1000\text{kgBB}} \times 200\text{gram} = 25\text{mg}$$

- Dosis untuk setiap tikus pada P3

$$2 \times 125\text{mg} = 250\text{mg}$$

$$x = \frac{250\text{mg/kgBB}}{1000\text{mg}} \times 200\text{gram} = 50\text{mg}$$

Jadi, dosis ekstrak etanol biji ketumbar yang diberikan untuk P1 12,5mg, P2 25mg, dan P3 50mg. Ekstrak diberikan dengan selang waktu 2 jam setelah pemberian parasetamol.

Pelarut yang digunakan disesuaikan dengan kapasitas maksimum lambung hewan coba untuk pemberian secara oral serta disesuaikan dengan berat badan masing-masing hewan. Volume pemberian sediaan ditentukan berdasarkan ketentuan yang tercantum pada tabel berikut.

Tabel 3.3 Batas Maksimum Volume Untuk Tiap Rute Pemberian Pada Hewan Coba

Hewan Coba	Batas Maksimal (ml) Untuk Tiap Rute Pemberian				
	IV	IM	IP	SK	PO
Mencit (20-30g)	0.5	0.05	1.0	0.5-1.0	1.0
Tikus (200g)	1.0	0.1	2.0-5.0	2.0-5.0	5.0
Hamster (50g)	-	0.1	1.0-2.0	2.5	2.5
Marmot (250g)	-	0.25	2.0-5.0	5.0	10.0
Merpati (300g)	2.0	0.5	2.0	2.0	10.0
Kelinci (1500g)	5.0-10.0	0.5	10.0-20.0	5.0-10.0	20.0
Kucing (3000g)	5.0-10.0	1.0	10.0-20.0	5.0-10.0	50.0
Anjing (5000g)	10.0-20.0	5.0	20.0-50.0	10.0	100.0

Sumber: (Gad *et al.*, 2006)

Mengingat dosis tertinggi pada kelompok P3 adalah 50 mg untuk tikus dengan berat standar 200 gram, maka volume pemberian maksimal ditetapkan sebesar 5 mL. Volume pemberian yang dianggap ideal adalah setengah dari volume maksimal tersebut, yaitu 2,5 mL. Ekstrak biji ketumbar yang awalnya memiliki konsentrasi 1000 mg/mL kemudian diencerkan hingga mencapai konsentrasi 25 mg/mL, dengan tujuan mempermudah perhitungan dosis serta mempertahankan efektivitas penyerapan sediaan pada tikus.

$$\text{Volume yang diberikan pada P1} = \frac{12,5\text{mg}}{25\text{mg}} \times 1\text{ml} = 0,5\text{ml}$$

$$\text{Volume yang diberikan pada P2} = \frac{25\text{mg}}{25\text{mg}} \times 1\text{ml} = 1\text{ml}$$

$$\text{Volume yang diberikan pada P2} = \frac{50\text{mg}}{25\text{mg}} \times 1\text{ml} = 2\text{ml}$$

Maka, volume yang dibutuhkan setiap kelompoknya adalah:

$$P1 = 0,5 \text{ ml} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 30 \text{ ml}$$

$$P2 = 1 \text{ ml} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 60 \text{ ml}$$

$$P3 = 2 \text{ ml} \times 6 \text{ ekor} \times 10 \text{ hari} = 120 \text{ ml}$$

$$\text{Total} = 30 \text{ ml} + 60 \text{ ml} + 120 \text{ ml} = 210 \text{ ml} \approx \mathbf{250 \text{ ml}}$$

Sehingga dibutuhkan 300ml larutan ekstrak biji ketumbar dengan kandungan 25mg/ml. Perhitungan pengencerannya dengan rumus sebagai berikut:

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

Keterangan:

V_1 = volume awal ekstrak (ml)

V_2 = volume hasil pengenceran (ml)

C_1 = konsentrasi awal ekstrak (mg/ml)

C_2 = konsentrasi hasil pengenceran (mg/ml)

Jika volume ekstrak yang dibuat adalah 300ml dan konsentrasi awal ekstrak adalah 1000mg/ml, maka:

$$V_1 \times 1000 \text{ mg/ml} = 250 \text{ ml} \times 25 \text{ mg/ml}$$

$$V_1 = 6,25 \text{ ml}$$

Jadi, didapatkan volume ekstrak awal untuk diencerkan adalah sebesar 6,25 ml dan ditambahkan pelarut sampai volumenya 250 ml, atau dengan kata lain ditambahkan pelarut sebanyak 243,75 ml untuk mendapatkan konsentrasi akhir ekstrak 25 mg/ml dan volume larutan 250 ml.

3.9.5 Terminasi dan Pengambilan Limpa Tikus Putih

Setelah diberi perlakuan selama 10 hari, tikus diterminasi pada hari ke-11. Terminasi dilakukan karena organ limpa tikus diambil dan diamati. Proses terminasi diawali dengan pemberian anestesi berupa Kloroform yang menyebabkan tikus kehilangan kesadaran, lalu dilakukan eutanasia dengan teknik *cervical dislocation* yang memungkinkan tikus

mati secara mendadak jika dilakukan dengan prosedur yang tepat (Domínguez-Oliva *et al.*, 2023). Jika tikus sudah dipastikan benar-benar mati, maka proses pembedahan dapat dilakukan. Proses pembedahan dimulai dengan membuat sayatan pada garis tengah tubuh tikus menggunakan *scalpel*. Sayatan dilakukan untuk membuka rongga abdomen sehingga organ limpa dapat diidentifikasi. Selanjutnya, organ limpa ditimbang dan hasil penimbangan dicatat. Setelah itu, limpa dibersihkan menggunakan alkohol dan kemudian difiksasi dalam larutan formalin 10% guna mencegah terjadinya proses pembusukan. Organ limpa yang telah difiksasi selanjutnya dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi Balai Veteriner untuk pembuatan preparat histopatologi.

3.9.6 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histologi

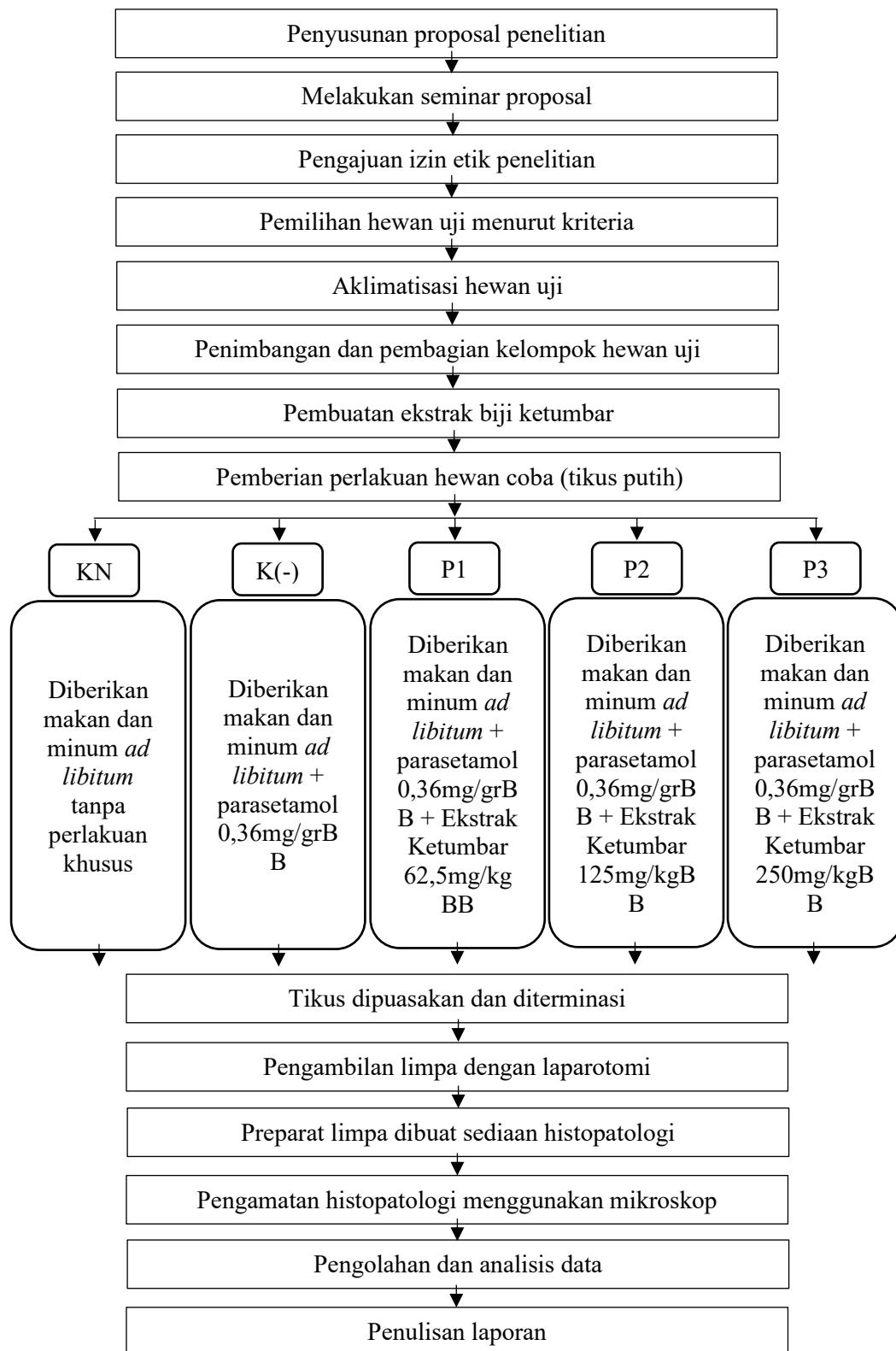
Pembuatan preparat histologi menurut Soesilawati (2020) sebagian berikut:

- a. Spesimen berupa potongan organ limpa yang berada di dalam larutan formalin 10% didiamkan selama 24 jam untuk fiksasi jaringan agar tidak memulai proses autolisis dan pembusukan.
- b. Limpa tikus putih diidentifikasi dan dipotong bagian tengah limpa tegak lurus terhadap sumbu panjang organ agar bagian pulpa merah dan putih terlihat jelas.
- c. Spesimen dicuci menggunakan air, kemudian dilakukan proses dehidrasi untuk menghilangkan kandungan air pada jaringan limpa. Dehidrasi dilakukan secara bertahap dengan merendam spesimen dalam larutan alkohol dengan konsentrasi meningkat, yaitu alkohol 70% selama dua jam, alkohol 80% selama dua jam, alkohol 96% selama 24 jam, dan diakhiri dengan alkohol absolut selama dua jam.

- d. Spesimen yang telah melewati proses dehidrasi direndam dalam agen penjernih berupa larutan *xylol* selama 1 jam sebanyak dua kali agar jaringan menjadi jernih.
- e. Spesimen dimasukkan ke dalam tabung berisi parafin cair untuk menggantikan agen penjernih berupa *xylol* yang masih berada di dalam jaringan, lalu dipanaskan dalam suhu 50-60 °C sebanyak dua kali dan didinginkan pada suhu ruang.
- f. Jaringan yang telah menjadi blok parafin dipotong menggunakan *rotary microtome* dengan ketebalan 5 mikron. Potongan terbaik yang representatif diapungkan ke dalam air.
- g. Lembaran yang mengapung di air diletakkan di kaca objek yang sebelumnya telah dipastikan steril selanjutnya diolesi albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1 sehari sebelum digunakan. Kaca objek didiamkan dalam suhu ruang selama 24-48 jam.
- h. Sisa parafin yang masih melekat pada preparat dihilangkan dengan cara merendam preparat secara bertahap dalam larutan *xylol* I, II, dan III, masing-masing selama lima menit. Selanjutnya, jaringan direhidrasi menggunakan larutan alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol absolut selama tiga menit, diikuti alkohol 96% selama tiga menit, alkohol 70% selama tiga menit, dan diakhiri dengan pembilasan menggunakan air mengalir selama tiga menit.
- i. Proses pewarnaan diawali dengan merendam kaca objek dalam larutan hematoksilin yang bersifat basa selama 10 menit. Setelah itu, preparat dibilas menggunakan air mengalir, kemudian direndam dalam larutan *counterstain* eosin yang bersifat asam selama satu menit, dan selanjutnya dibilas kembali dengan air mengalir.

- j. Preparat kemudian mengalami proses dehidrasi ulang menggunakan larutan alkohol bertingkat, yaitu alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, dan alkohol absolut selama 3 menit, kemudian dibilas dengan air. Selanjutnya, preparat direndam secara bertahap dalam larutan *xylol* I, II, dan III, masing-masing selama 5 menit.
- k. *Mounting* dengan meneteskan bahan entelan dan tutup preparat dengan *cover glass*, dipastikan tidak ada gelembung udara yang terbentuk.
- l. Preparat diamati di mikroskop cahaya dengan perbesaran 200x dalam 5 lapang pandang. Dalam setiap lapang pandang, diidentifikasi adanya perubahan struktur pulpa putih dan selularitas limpa (Rabei, 2011). Setelah itu dilakukan skoring pada setiap poin sebelumnya dan dihitung rata-rata dari setiap lapang pandang. Identifikasi mikroskopis dan pengukuran luas pulpa putih menggunakan bantuan *software ImageJ*.

3.9.7 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian.

3.10 Pengolahan dan Analisis Data

3.10.1 Pengelolaan Data

Data yang diperoleh dari proses pengumpulan selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik. Proses pengolahan data berbasis komputer ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu:

1) Editing

Melakukan pengecekan terhadap kelengkapan data hasil dari pembacaan preparat.

2) Coding

Merupakan proses konversi data yang dikumpulkan dari pembacaan preparat limpa tikus putih ke dalam skoring yang sudah ditetapkan sebelumnya.

3) Data entry

Memasukkan data hasil skoring preparat limpa tikus putih ke dalam program statistik pada komputer.

4) Cleaning

Pengecekan ulang data dari setiap pembacaan preparat untuk mencegah kemungkinan kesalahan pada skoring kerusakan limpa, dan selanjutnya melakukan analisis data untuk koreksi.

3.10.2 Analisis Data

Dalam penelitian ini, setiap variabel dianalisis menggunakan satu jenis uji statistik, yaitu analisis bivariat untuk menilai hubungan antarvariabel. Penelitian ini melibatkan satu variabel bebas dan dua variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini dikategorikan sebagai data berskala ordinal, sedangkan variabel terikat merupakan data berskala numerik.

Telah dilakukan uji normalitas data untuk melihat distribusi data penelitian. Dalam penelitian ini total sampel yang digunakan pada

semua kelompok penelitian adalah 25 sampel, sehingga uji normalitas data yang digunakan adalah uji Sapiro-Wilk untuk jumlah data <50 . Selanjutnya dilakukan transformasi untuk variabel mikroskopis karena data tersebut tidak terdistribusi normal. Namun, hasil trasnsformasi tetap menghasilkan data yang tidak normal sehingga dilakukan uji non-parametrik untuk variabel ini. Selanjutnya untuk mengetahui secara objektif homogenitas varian dilakukan uji homogenitas Levene, dengan data dinyatakan homogen jika $p>0.05$.

Pengujian parametrik diterapkan pada variabel berat organ karena telah memenuhi asumsi uji parametrik, dengan tujuan membandingkan perbedaan pengaruh antar kelompok KN, K(−), K(+), P1, P2, dan P3. Uji *one-way Analysis of Variance* (ANOVA) digunakan karena penelitian ini merupakan analisis komparatif numerik tidak berpasangan dengan lebih dari dua kelompok. Sementara itu, variabel mikroskopis yang tidak memenuhi asumsi parametrik, yaitu memiliki distribusi data yang tidak normal dan tidak homogen, dianalisis menggunakan uji non-parametrik berupa uji Kruskal–Wallis, yang selanjutnya dilanjutkan dengan uji *post-hoc* Mann–Whitney.

3.11 Etika Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat 4609/UN26.18/PP.05.02.00/2025. Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan memperhatikan prinsip etika penelitian hewan yang mencakup konsep 3R, yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi dan berat organ limpa tikus putih yang diinduksi parasetamol.

5.2 Saran

1. Penelitian berikutnya diharapkan dapat mengembangkan ekstrak dengan fraksi spesifik, sehingga mekanisme aktivitas pasti dari efek protektif biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) dapat diidentifikasi dengan lebih jelas.
2. Penelitian berikutnya diharapkan dapat mengidentifikasi faktor-faktor biokimia pendukung sehingga bukti efek protektif biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) tidak terbatas pada gambaran histopatologis saja.
3. Penelitian berikutnya diharapkan dapat menggunakan agen toksik lain selain parasetamol sehingga dapat memaksimalkan potensi biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) sebagai agen protektif terhadap toksitas obat-obatan.
4. Penelitian berikutnya disarankan untuk meneliti bagian lain dari tanaman ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) yang mungkin berpotensi memiliki antioksidan tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi, M. H., David, K., Idnan, M., Ahmed, Z., Qureshi, A. M. 2018. Effect of Time-lapse Administration of Panadol (Paracetamol) on Spleen and Kidney Functions of Adult Albino Mice. *RADS Journal of Biological Research & Applied Sciences*. 9(2):88–93.
- Al-Snafi, A. E. 2016. A Review on Chemical Constituents and Pharmacological Activities of *Coriandrum sativum*. *IOSR Journal of Pharmacy*. 6(7):17–42.
- Arts, J. W. M., Kramer, K., Arndt, S. S., Ohl, F. 2014. Sex Differences in Physiological Acclimatization After Transfer in Wistar Rats. *Animals*. 4(4):693–711.
- Athira, S., Mann, B., Sharma, R., Kumar, R. 2013. Ameliorative Potential of Whey Protein Hydrolysate Against Paracetamol-induced Oxidative Stress. *Journal of Dairy Science*. 96(3):1431–7.
- Ayoub, S. S. 2021. Paracetamol (acetaminophen): A Familiar Drug Its an Unexplained Mechanism of Action. *Temperature*. 8(4):351–71.
- Baghdadi, H. H., El-Demerdash, F. M., Hussein, S., Radwan, E. H. 2016. The protective effect of *Coriandrum sativum* L. Oil Against Liver Toxicity Induced by Ibuprofen in Rats. *Journal of Bioscience and Applied Research*. 2(3):197–202.
- Canayakin, D., Bayir, Y., Kilic Baygutalp, N., Sezen Karaoglan, E., Atmaca, H. T., Kocak Ozgeris, F. B., et al. 2016. Paracetamol-induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress in Rats: The Protective Role of *Nigella Sativa*. *Pharmaceutical biology*. 54(10):2082–91.
- Chaudhry, S. R., Luskin, V., Panuganti, K. K. 2023. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Spleen. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Diederichsen, A. 1996. *Coriander: Coriandrum Sativum L. (Vol. 3)*. Bioversity International.
- Domínguez-Oliva, A., Olmos-Hernández, A., Hernández-Ávalos, I., Lecona-Butrón, H., Mora-Medina, P., Mota-Rojas, D. 2023. Rat Grimace Scale as a

- Method to Evaluate Animal Welfare, Nociception, and Quality of the Euthanasia Method of Wistar Rats. *Animals*. 13(20):3161.
- Freo, U., Ruocco, C., Valerio, A., Scagnol, I., Nisoli, E. 2021. Paracetamol: A Review of Guideline Recommendations. *Journal of Clinical Medicine*. 10(15):3420.
- Gad, S. C., Cassidy, C. D., Aubert, N., Spainhour, B., Robbe, H. 2006. Nonclinical Vehicle Use in Studies by Multiple Routes in Multiple Species. *International Journal of Toxicology*. 25(6):499–521.
- Gomaa, S. 2017. Immunomodulatory and Hematological Effects Induced by Diclofenac, Ibuprofen or Paracetamol Toxicity in Swiss Albino Mice. *European Journal of Biological Research*. 7(4):348–59.
- Gomaa, S. 2018. Adverse Effects Induced by Diclofenac, Ibuprofen, and Paracetamol Toxicity on Immunological and Biochemical Parameters in Swiss Albino Mice. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 791–9.
- Handajani, F. 2021. *Metode Pemilihan dan Pembuatan Hewan Model Beberapa Penyakit pada Penelitian Eksperimental*. Zifatama Jawara.
- Hilal, M. A.-E., El Sayed, R. M., Ahmed, S. E. 2019. Review on Chemistry, Pharmacology and Toxicity of Paracetamol. *Sohag Medical Journal*. 23(2):56–61.
- Ifora, I., Sintia, B., & Srangenge, Y. 2021. Pengaruh Penghambatan Enzim Siklooksigenase-2 dan Aktivitas Antiinflamasi dari Ekstrak Daun Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 17–24.
- Jaeschke, H., Murray, F. J., Monnot, A. D., Jacobson-Kram, D., Cohen, S. M., Hardisty, J. F., et al. 2021. Assessment of the Biochemical Pathways for Acetaminophen Toxicity: Implications for Its Carcinogenic Hazard Potential. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 120104859.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., Trevor, A. J. 2017. *Basic and Clinical Pharmacology 14th edition*. McGraw-Hill Education New York, NY, USA.
- Kükner, A., Soyler, G., Toros, P., Dede, G., Meriçli, F., İşik, S., et al. 2021. Protective Effect of *Coriandrum sativum* Extract Against Inflammation and Apoptosis in Liver Ischaemia/reperfusion Injury. *Folia Morphologica*. 80(2):363–71.
- Kumar, V., Abbas, A. K., Aster, J. C., Deyrup, A. T. 2022. *Robbins & Kumar Basic Pathology*. Elsevier Health Sciences.
- Laribi, B., Kouki, K., M'Hamdi, M., Bettaieb, T. 2015. Coriander (*Coriandrum sativum L.*) and Its Bioactive Constituents. *Fitoterapia*. 1039–26.

- Lewis, S. M., Williams, A., Eisenbarth, S. C. 2019. Structure and Function of the Immune System in the Spleen. *Science Immunology*. 4(33):eaau6085.
- Mahadevan, V. 2019. Anatomy of the Pancreas and Spleen. *Surgery (Oxford)*. 37(6):297–301.
- Mahleyuddin, N. N., Moshawih, S., Ming, L. C., Zulkifly, H. H., Kifli, N., Loy, M. J., et al. 2021. *Coriandrum sativum L.: A Review on Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Cardiovascular Benefits*. *Molecules (Basel, Switzerland)*. 27(1).
- Mandal, M., Gardner, C. R., Sun, R., Choi, H., Lad, S., Mishin, V., et al. 2016. The spleen as an extramedullary source of inflammatory cells responding to acetaminophen-induced liver injury. *Toxicology and applied pharmacology*. 304:110–120.
- McCrae, J. C., Morrison, E. E., MacIntyre, I. M., Dear, J. W., Webb, D. J. 2018. Long-term Adverse Effects of Paracetamol—A Review. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 84(10):2218–30.
- McGill, M. R., Hinson, J. A. 2020. The Development and Hepatotoxicity of Acetaminophen: Reviewing Over a Century of Progress. *Drug Metabolism Reviews*. 52(4):472–500.
- Mescher, A. L. 2023. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas (2023)*. McGraw-Hill Education/Medical.
- Nadeem, M., Muhammad Anjum, F., Issa Khan, M., Tehseen, S., El-Ghorab, A., Iqbal Sultan, J. 2013. Nutritional and Medicinal Aspects of Coriander (*Coriandrum sativum L.*) A Review. *British Food Journal*. 115(5):743–55.
- Netter, F. H. 2019. *Atlas d'Anatomie Humaine*. Elsevier Health Sciences.
- Nugroho, B. S. 2021. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Air dan Etanol Daun Serta Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*). *Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional*.
- Okiljević, B., Martić, N., Govđedarica, S., Andrejić Višnjić, B., Bosanac, M., Baljak, J., et al. 2024. Cardioprotective and Hepatoprotective Potential of Silymarin in Paracetamol-Induced Oxidative Stress. *Pharmaceutics*. 16(4):520.
- Ouyang, G., Wu, W., Peng, B. 2021. Anatomy and Physiology of the Spleen. *Laparoscopic Surgery of the Spleen*. 21–33.
- Przybyła, G. W., Szychowski, K. A., Gmiński, J. 2021. Paracetamol—An Old Drug With New Mechanisms of Action. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 48(1):3–19.
- Putri, D. A., Primiani, C. N., Suproborini, A., Kusumawati, D. 2023. Skrining

- Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.). *Prosiding Seminar Nasional Program Studi Farmasi UNIPMA (SNAPFARMA)*. 1(1):107–11.
- Rabei, H. M. 2011. The Immunological and Histopathological Changes of Tramadol, Tramadol/Acetaminophen and Acetaminophen in Male Albino Rats “Comparative study.” *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 45(1):477–503.
- Rubyanti, S. N. F. 2019. Pengaruh Pemberian Rebusan Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap Kadar Gula Darah pada Mencit (*Mus musculus*). *Universitas Muhammadiyah Surabaya*.
- Sharp, P., Villano, J. S. 2012. *The Laboratory Rat*. CRC press.
- Shiffman, S., Battista, D. R., Kelly, J. P., Malone, M. K., Weinstein, R. B., Kaufman, D. W. 2018. Prevalence of Exceeding Maximum Daily Dose of Paracetamol, and Seasonal Variations in Cold-flu Season. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 84(6):1250–7.
- Tanino, T., Ueda, Y., Nagai, N., Ishihara, Y., Saijo, M., Funakami, Y. 2024. In Vivo Upstream Factors of Mouse Hepatotoxic Mechanism with Sustained Hepatic Glutathione Depletion: Acetaminophen Metabolite-Erythrocyte Adducts and Splenic Macrophage-Generated Reactive Oxygen Species. *Chemico-Biological Interactions*. 398111091.
- Thusius, N. J., Romanowicz, M., Bostwick, J. M. 2019. Intentional or Inadvertent Acetaminophen Overdose—How Lethal It Really is? *Psychosomatics*. 60(6):574–81.
- Tibebe, D., Belete, A., Kassa, Y., Mulugeta, M., Moges, Z., Yenealem, D., et al. 2024. Evaluation of Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activities of Seed Extracted from Coriander (*Coriandrum sativum* L.) and Black Cumin (*Nigella sativa*) Spices. *Food Analytical Methods*. 17(6):945–955.
- Treuting, P. M., Dintzis, S. M., Montine, K. S. 2017. *Comparative Anatomy and Histology: a Mouse, Rat, and Human Atlas* (2nd ed.). Academic Press.
- Wang, X., Wu, Q., Liu, A., Anadón, A., Rodríguez, J.-L., Martínez-Larrañaga, M.-R., et al. 2017. Paracetamol: Overdose-induced Oxidative Stress Toxicity, Metabolism, and Protective Effects of Various Compounds in vivo and in vitro. *Drug Metabolism Reviews*. 49(4):395–437.
- Yoon, E., Babar, A., Choudhary, M., Kutner, M., Pyrsopoulos, N. 2016. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: A Comprehensive Update. *Journal Of Clinical And Translational Hepatology*. 4(2):131.

Zubairu, S. A., Festus, O. A., Simeon, J. O., Irabor, I., Tosin, J. O. 2021. Effect of *Anacardium occidentale* Fruit Juice Extract on Haematological Parameters and Spleen of Paracetamol Induced Injury in Albino Rats. *GSJ.* 9(7):1640–54.