

JURNAL METAMORFOSA
Journal of Biological Sciences

ISSN: 2302-5697

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

The Effect of Celery Extract (*Apium graveolens* L.) Towards The Histological Structure of Rat's Kidney (*Rattus norvegicus*) Induced by Ethylene Glycol

Efek Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap Struktur Histologi Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Etilen Glikol

Mahriani^{1*}, Hidayat Teguh Wiyono², Nana Zaimatul Husna²

^{1,2,3}Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember, Jl. Kalimantan No.37, Krajan Timur, Sumbersari, Kec. Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur, 68121

*E-mail: yani_hendro@yahoo.com.

INTISARI

Ginjal adalah organ ekskresi penting untuk membuang sisa metabolisme tubuh. Batu ginjal dapat mempengaruhi fungsi ginjal. Seledri mengandung senyawa flavonoid yang dapat memperbaiki struktur histologis ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak seledri terhadap struktur histologis ginjal yaitu diameter glomerulus dan tubulus dengan endapan protein. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu, kontrol negatif (K-), tikus hanya diberi makan dan minum; kontrol positif (K +), tikus diinduksi Etilen glikol (EG) 0.75% + Ammonium klorida (AK) 2%, dosis 1 (D1), tikus diinduksi EG 0.75% + AK 2% dan ekstrak seledri 100 mg / kg, dosis 2 (D2), tikus diinduksi EG 0,75% + AK 2% dan ekstrak seledri 200 mg / kgBB. Pemberian EG 0.75% + AK 2% selama 7 hari secara *ad libitum* dan dilanjutkan pemberian ekstrak seledri selama 14 hari secara gavage. Ekstrak seledri dengan dosis 100 dan 200 mg / kgBB mampu memperbaiki struktur histologis ginjal tikus yang diinduksi oleh EG 0,75% dan AK 2%.

Kata kunci: seledri, diameter glomerulus, endapan protein

ABSTRACT

The kidneys are an important excretory organ for removing the rest of the body's metabolism. Kidney stones can affect kidney function. Celery contains flavonoid compounds that can improve the histological structure of the kidneys. This study aims to determine the effect of celery extract on the histological structure of the kidneys, namely the diameter of the glomerulus and tubule with protein deposits. This research is experimental with completely randomized design (CRD). The treatment group was divided into 4 groups, namely, negative control (K-), rats were only given food and drink; positive control (K+), rats induced Ethylene glycol (EG) 0.75% + Ammonium Chloride (AK) 2%, dose 1 (D1), rats induced EG 0.75% + AK 2% and celery extract 100 mg / kg, dose 2 (D2), rats induced EG 0.75% + AK 2% and celery extract 200 mg / kgBB. Giving EG 0.75% + AK 2% for 7 days *ad libitum* and continued with celery extract for 14 days by gavage. Celery extract at doses of 100 and 200 mg / kgBB were able to improve the histological structure of the rats' kidneys induced by EG 0.75% and AK 2%.

Keywords: celery, glomerular diameter, protein deposits

PENDAHULUAN

Ginjal adalah organ ekskresi penting untuk mengeluarkan sisa metabolisme tubuh dan zat toksik yang masuk ke dalam tubuh (Kumar *et al.*, 2015). Kerusakan pada ginjal akan mempengaruhi fungsi ginjal (Sherwood, 2011). Pada sistem urinaria, batu ginjal merupakan penyakit ketiga paling umum di dunia (Santi *et al.*, 2018). Diperkirakan 12% penduduk dunia mengalami batu ginjal dengan prevalensi 70-81% laki-laki dan 47-60% perempuan (Walean *et al.*, 2018).

Batu ginjal dapat disebabkan karena adanya sedimentasi urin dalam ginjal (Santi *et al.*, 2018). Faktor penyebab sedimentasi urin pada ginjal antara lain karena terlalu aktifnya kelenjar paratiroid, sehingga kadar kalsium dalam urin tinggi (Hasanah, 2016). Konsentrasi kalsium pada urin yang terlalu tinggi menyebabkan urin mengalami supersaturasi (Rusdiana *et al.*, 2015). Supersaturasi urin akan membentuk endapan massa padat pada ginjal (Tsujiyata, 2008). Disebutkan bahwa 80% batu ginjal tersusun dari kalsium oksalat (Wientarsih *et al.*, 2012). Kristal kalsium oksalat dalam nefron menyebabkan kerusakan sel dan menurunkan fungsi kerja ginjal (Wientarsih *et al.*, 2012; Fikriani dan Wardhana, 2018). Batu ginjal pada hewan uji dapat diinduksi menggunakan etilen glikol 0,75% + ammonium klorida 2% (Arifin *et al.*, 2014).

Pembentukan kristal kalsium oksalat dalam ginjal dapat dihambat dengan memanfaatkan kandungan fitokimia flavonoid yang ada pada tumbuhan (Jouad *et al.*, 2001). Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukan penelitian tentang efek ekstrak daun seledri terhadap struktur histologi ginjal tikus (*R. norvegicus*) yang diinduksi etilen glikol dan ammonium klorida.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun seledri (*A. graveolens*), tikus (*R. norvegicus*) jantan, pakan pellet (BR1), akuades, serbuk gergaji kayu, etilen glikol, ammonium klorida, etanol 96%, kloroform, larutan fiksasi (buffer formalin 10%), alkohol

bertingkat 30%-absolut, xilol, parafin, entellan, dan pewarna Hematoksin-Eosin.

Metode

Persiapan Hewan Uji

24 ekor tikus jantan dipelihara dan diadaptasikan pada kandang bak plastik dengan penutup ram kawat berukuran 34 cm x 25 cm x 12 cm yang diberi alas serbuk gergaji kayu. Selama pemeliharaan, tikus diberi pakan pellet (BR1) sebanyak 20 gram dan diberi minum akuades secara *ad libitum*.

Pembuatan Ekstrak Daun Seledri

Daun seledri sebanyak 5 kg dipisahkan dari batangnya, kemudian di oven dengan suhu 50° C selama \pm 2 hari. Daun kering dihaluskan menggunakan grinder dan diayak, diperoleh simpliasis halus 395 gram. Setiap simpliasis halus 100 gram direndam dalam 1000 ml etanol 96% (perbandingan 1:10) pada *beaker glass* yang ditutup aluminium foil selama 24 jam. Hasil rendaman kemudian disaring. Residu dari rendaman kemudian di remaserasi menggunakan etanol 96% sesuai proses maserasi sebelumnya. Semua filtrat di evaporasi pada suhu 60°C menggunakan *rotary evaporator* selama 3 jam dan dihasilkan ekstrak kental daun seledri (Majidah *et al.*, 2014).

Pembuatan Sediaan Induksi Batu Ginjal

Untuk induksi pembentukan batu ginjal pada tikus digunakan etilen glikol 0,75% dan untuk mempercepat pembentukan batu ginjal digunakan ammonium klorida 2%. Larutan stok dibuat sebanyak 1000 ml. etilen glikol sebanyak 7,5 ml dilarutkan dalam sedikit akuades dan dicampurkan dengan 20 g ammonium klorida yang telah dilarutkan dengan sedikit akuades. Selanjutnya, campuran tersebut ditambahkan akuades hingga 1000 ml. (Santi *et al.*, 2018).

Perlakuan Hewan Uji

24 tikus dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol negatif (K-) tidak diberikan perlakuan, kontrol positif (K+) diberikan EG 0,75% + AK 2% selama 7 hari, dosis 1 (D1) diberikan 0,75% + AK 2% selama 7 hari dan dilanjutkan ekstrak

seledri dosis 100 mg/kgBB selama 14 hari, dan dosis 2 (D2) diberikan 0,75% + AK 2% selama 7 hari dan dilanjutkan ekstrak seledri dosis 200 mg/kgBB selama 14 hari (Arifin *et al.*, 2014; Susilo *et al.*, 2018).

Setelah pemberian ekstrak seledri hari ke 14, dilakukan pembedahan tikus. Tikus dibius menggunakan kloroform dan diletakkan di atas papan bedah pada posisi telentang. Kemudian dilakukan pembedahan pada bagian abdomen. Dicari organ ginjal, diambil, dan dicuci dengan NaCl 0,9% untuk selanjutnya dibuat preparat histologi ginjal. Pembuatan preparat histologi ginjal menggunakan metode parafin dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) (Suntoro, 1983)

Parameter Penelitian

Pengamatan histologi ginjal meliputi pengukuran diameter glomerulus dan adanya endapan protein di lumen tubulus proksimal. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400x yang dilengkapi dengan OptiLab.

1. Pengamatan diameter glomerulus pada lima bidang pandang. Pengukuran diameter glomerulus menggunakan Image Raster secara vertical dan horizontal dan kemudian dirata-rata (Ilmiyah, 2018).
2. Pengamatan endapan protein pada lumen tubulus proksimal pada 10 bidang pandang... Persentase endapan protein pada lumen tubulus proksimal dihitung dari

jumlah tubulus proksimal dengan endapan protein dibagi dengan seluruh tubulus proksimal yang diamati dikalikan 100% (Rahamdona, 2019).

Analisis Data

Data persentase kerusakan glomerulus dan tubulus ginjal, yaitu diameter glomerulus dan presentase endapan protein pada tubulus yang diperoleh dianalisis statistik secara kuantitatif menggunakan aplikasi SPSS, uji *one way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% dengan taraf signifikansi $\alpha=0,05$. Selanjutnya untuk mengetahui beda nyata antar kelompok uji dilakukan analisis DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) $\alpha=0,05$ (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL

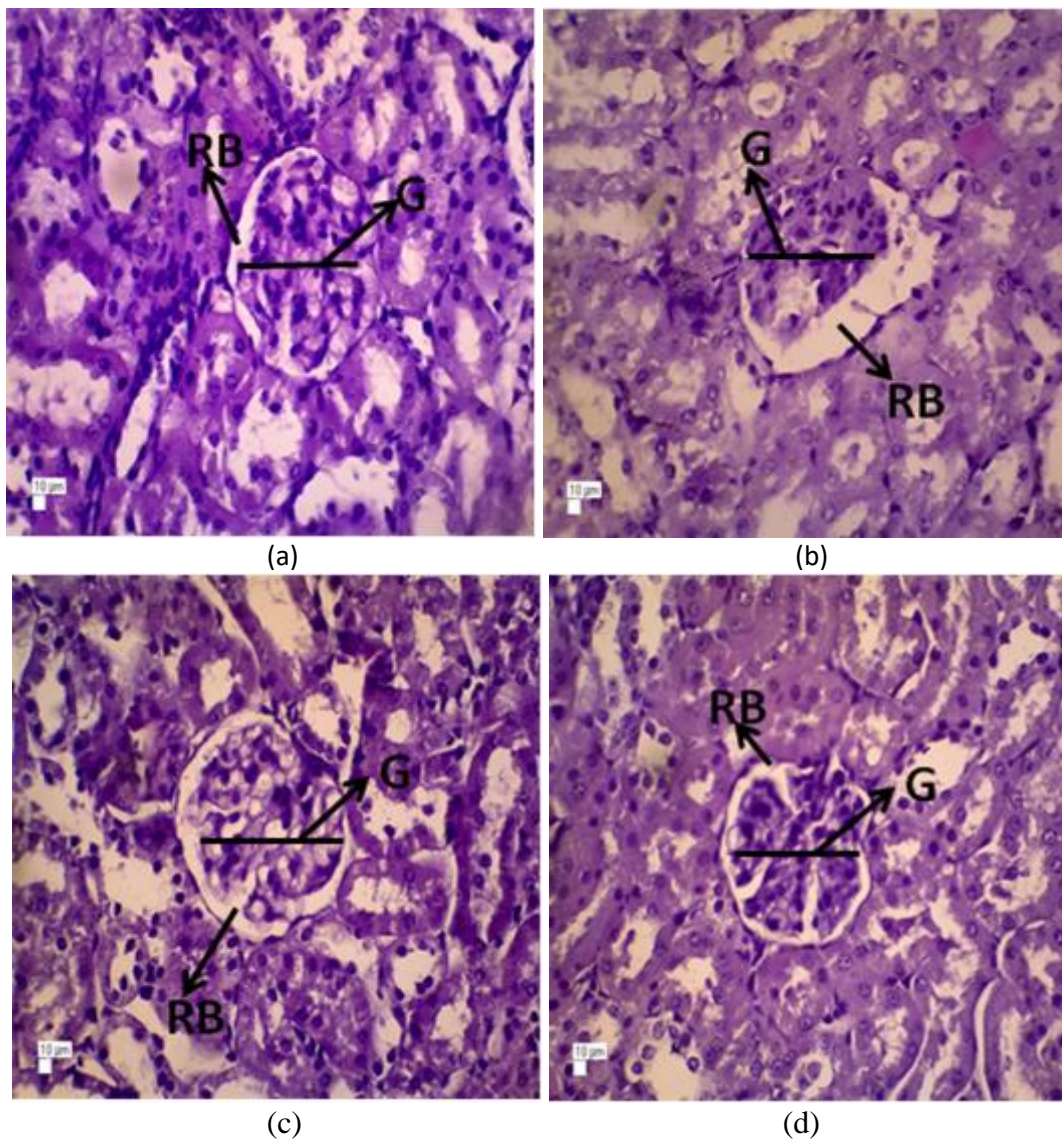
Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pemberian ekstrak seledri berpengaruh nyata terhadap rata-rata diameter glomerulus dan presentase tubulus dengan endapan protein (Tabel 1).

Hasil Pengamatan menunjukkan bahwa setelah induksi EG 0.75% + AK 2% rata-rata diameter glomerulus menurun dan setelah pemberian ekstrak seledri meningkat (Gambar 1). Sedangkan presentase tubulus dengan endapan protein meningkat setelah induksi EG 0.75% + AK 2% dan setelah pemberian ekstrak seledri presentase mengalami penurunan (Gambar 2).

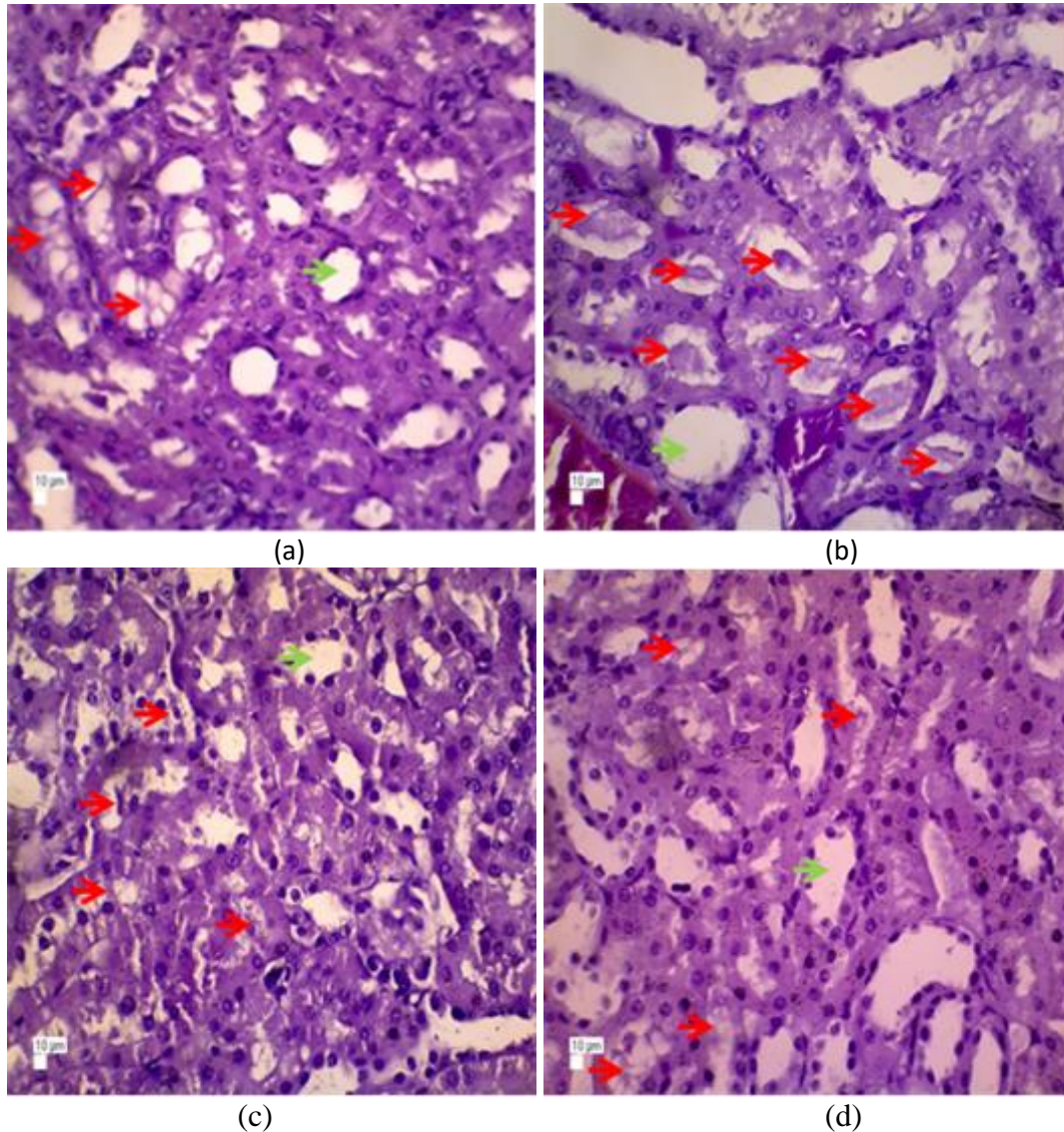
Tabel 1. Rata-rata diameter glomerulus dan presentase tubulus dengan endapan protein pada ginjal tikus (*R. norvegicus*) pada beberapa perlakuan

Perlakuan	Diameter Glomerulus (μm)	Tubulus dengan endapan protein (%)
K-	106.12 ^a ± 5.62	0.248 ^a ± 0.019
K+	97.27 ^b ± 1.64	0.504 ^b ± 0.016
D1	113.71 ^c ± 4.26	0.430 ^c ± 0.010
D2	111.68 ^c ± 4.26	0.419 ^c ± 0.011

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata. K- (kontrol negatif), K+ (kontrol positif), D1: diberi ekstrak daun seledri 100 mg/kgBB, D2: diberi ekstrak daun seledri 200 mg/kgBB).



Gambar 1. Penampang melintang glomerulus pada beberapa perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400x (Sumber: Dokumentasi pribadi, 2020).
 (a) Kontrol negatif, diameter glomerulus normal; (b) kontrol positif (EG 0.75%+ AK 2%), diameter glomerulus menyempit dan ruang Bowman melebar ; (c) ekstrak daun seledri dosis 100 mg/kg BB, diameter glomerulus mendekati normal; (d) ekstrak daun seledri dosis 200 mg/kg BB, diameter glomerulus mendekati normal; G: glomerulus; RB : ruang antar Bowman.



Gambar 2. Penampang melintang tubulus pada beberapa perlakuan dengan pewarnaan HE perbesaran 400x (Sumber: dokumentasi pribadi, 2020).

- (a) Kontrol negatif, tubulus dengan endapan protein sedikit (b) kontrol positif (EG 0.75% + AK 2%), jumlah tubulus dengan endapan protein meningkat; (c) ekstrak daun seledri dosis 100 mg/kg BB, tubulus dengan endapan protein berkurang; (d) ekstrak daun seledri dosis 200 mg/kg BB, jumlah tubulus dengan endapan protein berkurang; panah merah: lumen tubulus dengan endapan protein; panah hijau: lumen tubulus tanpa endapan protein.

PEMBAHASAN

Penurunan rata-rata diameter glomerulus pada kontrol positif diakibatkan adanya induksi EG 0.75% + AK 2%. Induksi EG 0.75%+AK 2% dapat menyebabkan kerusakan pada kapiler glomerulus. Kapiler glomerulus yang rusak akan menurunkan laju filtrasi glomerulus serta meningkatkan daya permeabilitas kapiler glomerulus (Macfarlane *et al.*, 2000). Hal ini akan menyebabkan sel darah, protein, dan zat-

zat toksik bisa lolos karena filtrasi glomerulus yang kurang baik (Pongoh *et al.*, 2019). Zat tersebut akan berkumpul di ruang antar glomerulus dan kapsula Bowman. Filtrat akan mengisi ruang sehingga menyebabkan glomerulus menjadi tertekan dan mengecil, sedangkan kapsula Bowman akan terdorong oleh cairan filtrat sehingga akan meluas (Macfarlane *et al.*, 2000). Mengecilnya glomerulus dapat dilihat dari diameter

glomerulus. Penurunan rata-rata diameter glomerulus berkaitan dengan terganggunya fungsi ginjal (Salahshoor *et al.*, 2019). Histologi glomerulus ginjal tikus putih jantan pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1.

Pemberian ekstrak seledri dapat memperbaiki kondisi glomerulus, hal tersebut dapat dilihat dari meningkatnya diameter glomerulus. Peningkatan rata-rata diameter glomerulus ini diduga disebabkan oleh aktivitas flavonoid daun seledri. Flavonoid berperan sebagai diuretik yang akan mengeluarkan zat nefrotoksik dengan cara meningkatkan laju filtrasi glomerulus, sehingga zat nefrotoksik yang ada pada ginjal akan keluar bersama urin (Wientarsih *et al.*, 2014). Selain itu, flavonoid juga menghambat reabsorpsi Na^+ dan Cl^- sehingga air dalam tubulus mengalami peningkatan (Jouad *et al.*, 2001).

Flavonoid juga berperan sebagai antioksidan yang akan menangkal radikal bebas (Rakanita *et al.*, 2017). Ion hidrogen pada flavonoid akan didonorkan, sehingga efek toksik dari radikal bebas ternetralisir dan ion-ion akan stabil. Kestabilan ion ini akan menurunkan stress oksidatif jaringan, sehingga glomerulus akan mengalami peningkatan laju filtrasi (Tandi *et al.*, 2017). Hasil penelitian Savira (2018), menyebutkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Kari pada dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat mengurangi kerusakan ginjal yang berupa atrofi glomerulus serta memberikan aktivitas perlindungan terhadap ginjal melalui aktivitas antioksidan.

Pemberian ekstrak seledri dosis 200 mg/kg BB cenderung memberikan hasil mendekati rata-rata diameter glomerulus kelompok normal. Hal ini diduga karena semakin tinggi dosis ekstrak seledri yang diberikan, maka semakin tinggi pula peran senyawa flavonoid dalam memperbaiki glomerulus yang mengalami atrofi.

Induksi EG 0.75% + AK 2% juga dapat menyebabkan terbentuknya kristal kalsium oksalat pada ginjal. Menurut Laroubi *et al.* (2007), etilen glikol yang masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan terbentuknya kristal oksalat. Kristal kalsium oksalat yang mengendap dalam

ginjal akan membentuk batu ginjal. Batu ginjal dapat menyebabkan konsentrasi protein pada plasma darah mengalami peningkatan (Mescher, 2013), menyebabkan zat-zat tersebut lolos dari filtrasi glomerulus, dan protein akan masuk pada lumen tubulus. Endapan protein dalam lumen tubulus berkaitan dengan gagalnya filtrasi yang dilakukan oleh glomerulus (Bakti, 2018).

Jika kemampuan filtrasi glomerulus berkurang, maka sel darah, protein, dan zat toksik dapat keluar bersama dengan urin atau tertimbun dalam lumen tubulus (Pongoh *et al.*, 2019). Hartiningsih *et al.* (2017) juga menyebutkan bahwa dalam keadaan glomerulus atrofi, sel epitel yang rusak terlepas dari dinding kapiler, sehingga protein lolos dan mengendap di dalam lumen tubulus. Menurut Zachary dan McGavin (2013), adanya endapan protein pada lumen tubulus dapat disebabkan karena tubulus proksimal ginjal mengalami kelainan sehingga protein dari ultrafiltrat glomerulus tidak direabsorpsi. Menurut Tarloff dan Lash (2005), reabsorpsi pada tubulus proksimal terganggu karena protein melebihi batas kemampuan tubuli melakukan reabsorpsi. Histologi tubulus ginjal tikus putih jantan pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.

Kandungan flavonoid pada ekstrak seledri dapat mengurangi kerusakan pada tubulus ginjal. Menurut Wientarsih *et al.* (2014), flavonoid dapat meningkatkan urinasi dan mengeluarkan elektrolit dengan cara meningkatkan kecepatan filtrasi glomerulus. Flavonoid sebagai antioksidan akan melindungi struktur epitel tubuh termasuk ginjal. Ion hidrogen pada flavonoid akan didonorkan dan membentuk radikal fenoksil yang memiliki sifat kurang reaktif sehingga efek toksik dari radikal bebas dapat dinetralisir (Sandhar *et al.*, 2011). Madyastuti *et al.* (2015) menyatakan bahwa infusum daun alpukat yang mengandung senyawa flavonoid dapat menurunkan presentase endapan protein. Pemberian ekstrak seledri dosis 200 mg/kg BB cenderung lebih menurunkan persentase endapan protein. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak seledri yang diberikan, peran senyawa

flavonoid dalam menurunkan jumlah endapan protein pada lumen tubulus juga semakin tinggi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pemberian etilen glikol dan ammonium klorida selama 7 hari dapat menurunkan rata-rata diameter glomerulus dan meningkatkan jumlah endapan protein pada lumen tubulus. Pemberian ekstrak daun seledri dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB dapat meningkatkan rata-rata diameter glomerulus dan menurunkan jumlah endapan protein pada lumen tubulus ginjal tikus yang diinduksi etilen glikol 0.75% dan ammonium klorida 2%. Ekstrak daun seledri dapat memperbaiki struktur histologi ginjal.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, H., V. Resviana, dan Elisma. 2014. Pengaruh ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap volume urin dan hambatan pembentukan batu ginjal pada tikus terinduksi etilen glikol. *Jurnal Farmasi Higea*. 6(2):145–156.
- Bakti, A. S. 2018. Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Setelah Diinduksi Racun Lebah (*Apis mellifera*) (Skripsi). Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Dewi, E. K. M., D. K. Walanda, dan S. M. Sabang. 2016. Pengaruh ekstrak seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap kelarutan kalsium dalam batu ginjal. *J. Akademika Kim*. 5(3):127–132.
- Fikriani, H. dan Y. W. Wardhana. 2018. Review artikel alternatif pengobatan batu ginjal dengan seledri. *Farmaka*. 16(2):531–539.
- Hartiningsih, H., A. D. Puspitasari, N. D. Putri, N. Arifah, W. Pawestri, dan D. Anggraeni. 2017. Kombinasi calcitriol dan ethynil ethyl estradiol meningkatkan ekskresi kalsium urin dan risiko urolitiasis pada tikus ovariektomi. *Jurnal Veteriner*. 18(2):239.
- Hasanah, U. 2016. Mengenal penyakit batu ginjal. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*. 14(28):76–85.
- Ilmiyah, D. A. N. I. 2018. Efek Diuretik Ekstrak Etanol Kulit Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) Terhadap Histologi Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus* sp.) (Skripsi). Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Jouad, H., M. A. Lacaille-Dubois, B. Lyoussi, dan M. Eddouks. 2001. Effects of the flavonoids extracted from *Spergularia purpurea* Pers. on arterial blood pressure and renal function in normal and hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 76(2):159–163.
- Kumar, V., A. B. Abbas, dan N. Fausto. 2015. Robbins and Cotran's Pathological Basis of Disease. 9e. Elsevier Health Sciences.
- Laroubi, A., M. Touhami, L. Farouk, I. Zrara, R. Aboufatima, A. Benharref, dan A. Chait. 2007. Prophylaxis effect of *Trigonella foenum graecum* L. seeds on renal stone formation in rats. *Physearchtotherapy R*. 21:921–925.
- Macfarlane PS, R. R, dan R. C. 2000. Pathology Illustrated. Ed Ke-5. London: Churchill Livingstone.
- Madyastuti, R., S. Widodo, I. Wientarsih, dan E. Harlina. 2015. Infusum daun alpukat sebagai inhibitor kristalisasi kalsium oksalat pada ginjal. *Jurnal Veteriner*. 16(4):525–532.
- Majidah, D., D. W. A. Fatmawati, dan A. Gunadi. 2014. Daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai alternatif obat kumur. *Artikel Ilmiah Penelitian Mahasiswa*.
- Mescher, A. L. 2013. Junqueira's Basic Histology Text & Atlas 13th Edition. Edisi 13. Indiana: Indiana University School of Medicine.
- Pongoh, E. J., R. J. Rumampuk, D. H. O. Howan, dan V. Tamunu. 2019. Skrining fitokimia dan potensi antilitiasis dari ekstrak etanol daun nusa indah putih (*Mussaenda pubescens*). *Fullerene Journ. Of Chem*. 4(2):76–81.
- Rahamdonga. 2019. Aktivitas Ekstrak Daun

- Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Terhadap Perbaikan Ginjal Tikus Akibat Induksi Etilen Glikol. (Skripsi). Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Rakanita, Y., L. Hastuti, J. Tandil, dan S. Mulyani. 2017. Efektivitas antihiperurisemia ekstrak etanol daun seledri (eeds) pada tikus induksi kalium oksonat. *J. Trop. Pharm. Chem.* 4(1):1–6.
- Rusdiana, T., J. Solahudin, E. Halimah, A. W. Irwan, S. A. Sumiwi, dan M. Abdasah. 2015. Pengujian efek antikalkuli dari herba seledri (*Apium graveolens* L.) secara in vitro in. *IJPST.* 2(2):63–67.
- Salahshoor, M. R., C. Jalili, dan S. Roshankhah. 2019. Can royal jelly protect against renal ischemia/reperfusion injury in rats? *The Chinese Journal of Physiology.* 62(3):131–137.
- Sandhar, H. K., B. Kumar, S. Prasher, P. Tiwari, M. Salhan, dan P. Sharma. 2011. A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia.* 1(1):25–41.
- Santi, I., Rahmawati, dan L. Tari. 2018. Efek ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model urolithiasis. *Journal of Pharmacy and Tecnology.* 1(1):42–50.
- Savira, N. 2018. Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) Pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Gentamisin (Skripsi). Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Sherwood, L. 2011. Fisiologi Manusia: Dari Sel Ke Sistem. Edisi 6. Jakarta: EGC.
- Steel, R. G. D. dan J. H. Torrie. 1993. Prinsip Dan Prosedur Statistika (Pendekatan Biometrik) Penerjemah B. Sumantri. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Suntoro, H. 1983. Metode Pewarnaan. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Susilo, J., H. Ulya, N. H. Furdianti, U. Ngudi, dan W. Ungaran. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak daun *Apium graveolens* L. terhadap penurunan kadar kreatinin dan ureum serum tikus yang diinduksi etilen glikol. *Prosiding Seminar Nasional Unimus.* 1:104–113.
- Tandil, J., A. Wulandari, dan Asrifa. 2017. Efek ekstrak etanol daun gendola merah (*Basella alba* L.) terhadap kadar kreatinin. *Galenika Journal of Pharmacy.* 3(2):93–102.
- Tarloff, J. B. dan L.H. Lash. 2005. *Toxicology of the Kidney, 3rd Edition Target Organ Toxicology Series.* Florida (US): CRC.
- Tsujihata, M. 2008. Mechanism of calcium oxalate renal stone formation and renal tubular cell injury crystal aggregation. *International Journal of Urology.* 15:115–120.
- Walean, M., R. Rumondor, H. P. Maliangkay, dan R. Melpin. 2018. pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Syzygium* sp.) terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih yang diinduksi etilen glikol. *Chem.Prog.* 11(1):29–34.
- Wientarsih, I., E. Harlina, R. M. Purwono, dan I. T. H. Utami. 2014. Aktivitas ekstrak etanol daun alpukat terhadap zat nefrotoksik ginjal tikus. *Jurnal Veteriner.* 15(2):246–251.
- Wientarsih, I., R. Madyastuti, B. F. Prasetyo, dan A. Aldobrata. 2012. Anti lithiasis activity of avocado (*persea americana* mill) leaves extract in white male rats. *HAYATI Journal of Biosciences.* 19(1):49–52.
- Zachary, Z. . dan M. . McGavin. 2013. *Pathologic Basis of Veterinary Disease-E-Book.* St. Louis (US): Elsevier Health Sciences.