

EFFECT OF REPEATED ORAL ADMINISTRATION ETHANOL EXTRACT OF BIDARA LEAVES (*Ziziphus mauritana* L.) ON THE KIDNEY OF RATS

Sitti Amirah*, Safriani Rahman, Fitriana, Syahgita Rakhmat, Putri Dwiyantri Adha

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Jl. Urip Sumohardjo KM 5, Makassar, Sulawesi Selatan, 90231, Indonesia

*Corresponding author: Sitti Amirah (sitti.amirah@umi.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 3 January 2024

Revised: 25 January 2025

Accepted: 1 February 2025

Abstract

The recurrent use of traditional medicine may be harmful and harm essential organs, including the heart, lungs, liver, and kidneys. Bidara leaves are conventionally utilised by the community for their antibacterial, analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, and anti-diabetic properties. This study seeks to assess the safety of ethanol extract from bidara leaves on the renal function of rats. This research employed Wistar rats as subjects, categorised into four groups. Group 1 received NaCMC as a control, whereas groups 2, 3, and 4 were administered ethanol extract of bidara leaves at doses of 50 mg/kgBW, 500 mg/kgBW, and 2000 mg/kgBW orally once day for 14 days. Creatinine levels were measured prior to and subsequent to the administration of the extract, followed by statistical analysis to identify any differences among the test groups. Surgery was subsequently conducted for histological analysis of the kidneys. The research findings indicate that the administration of ethanol extract from bidara leaves over a 14-day period did not significantly affect the creatinine levels in the rats ($p < 0.05$). The histological investigation revealed varying degrees of damage, including inflammation, degeneration, congestion, and necrosis, with the most pronounced damage occurring at a dosage of 2000 mg/kg BW. The repeated oral administration of ethanol extract from bidara leaves did not significantly affect the creatinine levels in the rats; nevertheless, histological analysis revealed some damage, particularly at the dosage of 2000 mg/kgBW.

Keywords: creatinine, kidney, toxicity, *Ziziphus mauritiana* L.

PENGARUH PEMBERIAN BERULANG SECARA ORAL EKSTRAK ETANOL DAUN BIDARA (*Ziziphus mauritiana* L.) TERHADAP GINJAL TIKUS

Abstrak

Pemberian obat tradisional secara berulang dapat berpotensi toksik dan merusak organ-organ vital seperti jantung, paru-paru, hati, dan ginjal. Daun bidara digunakan secara tradisional oleh masyarakat sebagai antimikroba, analgesik, antipiretik, antiinflamasi, antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan ekstrak etanol daun bidara terhadap ginjal tikus. Penelitian menggunakan tikus wistar yang terdiri atas 4 kelompok. Kelompok 1 diberi NaCMC sebagai kontrol, kelompok 2, 3 dan 4 diberikan

masing-masing ekstrak etanol daun bidara dosis 50 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB secara oral sekali sehari selama 14 hari. Pengukuran kadar kreatinin dilakukan sebelum dan setelah pemberian ekstrak kemudian dilakukan analisa statistik untuk mengetahui adanya perbedaan pada tiap kelompok uji. Setelah itu, dilakukan pembedahan untuk pemeriksaan histopatologi ginjal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bidara selama 14 hari tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar kreatinin tikus ($p < 0,05$). Hasil pemeriksaan histopatologi memperlihatkan adanya kerusakan seperti peradangan, degenerasi, kongesti dan nekrosis yang berbeda pada masing-masing kelompok dengan kerusakan terbesar pada dosis 2000 mg/kgBB. Pemberian berulang ekstrak etanol daun bidara secara oral tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar kreatinin tikus tetapi secara histopatologi menunjukkan adanya beberapa kerusakan terutama pada dosis 2000 mg/kgBB.

Kata kunci: daun bidara, ginjal, kreatinin, toksisitas, *Ziziphus mauritiana* L.

Pendahuluan

Uji toksisitas merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan dari suatu senyawa atau sediaan uji. Dalam pengembangan obat harus dipastikan mengenai keamanan dan toksisitasnya. Uji toksisitas yang dapat dilakukan meliputi uji toksisitas akut, toksisitas subkronis, toksisitas kronis, teratogenisitas, sensitisasi, iritasi, dan karsinogenisitas. Uji toksisitas subkronik oral merupakan pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji.¹

Tanaman bidara banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat terutama daunnya. Daun bidara digunakan sebagai agen antimikroba, antidepresan, analgesik, antipiretik, anti-inflamasi, antioksidan, antikanker, antidiabetik, nefroprotektor, hepatoprotektor, neuroprotektor.² Daun bidara mengandung komponen kimia berupa protein, asam amino, flavonoid, alkaloid, glikosida, terpenoid, saponin, serat, tanin dan senyawa fenolik. Konstituen karakteristik utama adalah triterpen dan saponin triterpen dengan aliphilic, benarinic, maslinic, oleanolic, ursolic, 3-O-trans-aliphilic, 3-O-cis-p-aliphilic, 3-O-cis-pcoumaroylaliphilic, 3-O-trans-pcoumaroylaliphilicacide.³

Hasil penelitian sebelumnya berupa efek antiinflamasi ekstrak metanol daun bidara memberikan penghambatan inflamasi pada dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Pemberian sediaan secara berulang untuk mendapatkan efek dalam jangka waktu tertentu secara oral berpotensi untuk mengganggu beberapa organ vital seperti jantung, hati, paru-paru, ginjal. Hasil penelitian sebelumnya diketahui pada dosis 600 mg/kg BB sudah berpotensi mempengaruhi organ hati mencit setelah pemberian selama 14 hari.⁴ Hasil penelitian toksisitas yang lain terhadap fungsi ginjal mencit putih jantan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bidara menimbulkan gejala toksik dilihat dari rasio berat ginjal pada dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB tetapi tidak menunjukkan gejala toksik dilihat dari pemeriksaan parameter kreatinin.⁵ Hal tersebut yang mendasari untuk melakukan pengujian terhadap organ ginjal dengan dosis yang lebih tinggi dan menggunakan hewan uji tikus. Ginjal diketahui memiliki fungsi untuk melakukan filtrasi dan membantu sekresi senyawa dari dalam tubuh. Gangguan fungsi ginjal akan berpengaruh besar terhadap pengeluaran sisa metabolisme dari dalam tubuh. Jika sisa metabolisme tidak dikeluarkan maka akan menumpuk didalam tubuh dan mengganggu homeostasis tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pemberian berulang ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L) pada ginjal tikus berdasarkan parameter kreatinin dan histopatologi.

Manfaat dari penelitian ini untuk menambah data ilmiah terkait keamanan dari daun bidara agar penggunaannya di masyarakat dapat lebih dipertanggungjawabkan.

Metode

Alat

Alat yang digunakan yaitu bejana maserasi, gelas kimia (Iwaki®), gelas ukur (Iwaki®), labu ukur (Iwaki®), rotary evaporator (IKA® RV05), seperangkat alat bedah, alat suntik 3 mL, sonde oral tikus, timbangan analitik, timbangan hewan, waterbath, tabung Eppendorf, tabung serum, restrainer hewan, sentrifuge, seperangkat alat pembuatan preparat histopatologi, mikroskop.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.), etanol 96%, buffer neutral formalin (BNF) 10%, natrium carboxymethyle cellulose (Na-CMC), pakan hewan, paket pewarnaan Haematoksilin-Eosin, reagen kreatinin.

Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) diperoleh dari Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan.

Pengolahan Sampel

Daun bidara yang dikumpulkan melalui proses sortasi basah dengan air mengalir untuk membuang kotoran yang menempel. Setelah itu sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari sebelum dilanjutkan ke sortasi kering. Selanjutnya sampel diblender hingga halus dan disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk proses ekstraksi selanjutnya.

Pembuatan Ekstrak Daun Bidara

Simplisia yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 250 g kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi, ditambahkan pelarut etanol 96% sampai menutupi permukaan simplisia dan dibiarkan selama 5 hari lalu disaring. Dilakukan remaserasi sebanyak dua kali. Ekstrak cair yang diperoleh, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dalam deksikator.⁵

Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) berusia 2-3 bulan dengan berat 150-200 g. Hewan uji diperoleh dari peternakan hewan Universitas Hasanuddin dan telah memperoleh Surat Keterangan Kesehatan Hewan (SKKH) dari Dinas Pertanian dan Ketahanan Pangan Kabupaten Maros. Hewan uji terlebih dahulu diadaptasi selama \pm 7 hari dengan memberikan makan dan minum secukupnya. Setelah itu hewan uji yang sehat ditimbang sebelum diberikan perlakuan. Penelitian ini juga telah persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Muslim Indonesia dengan nomor. 556/A.1/KEP-UMI/XI/2023.

Prosedur

Pemeriksaan Kadar Kreatinin

Metodologi untuk pengujian diadaptasi dari pedoman uji toksisitas yang disediakan oleh BPOM dan Dhuha.^{1,4} Penelitian ini merujuk pada prosedur uji toksisitas subkronik singkat 14 hari yang hanya menggunakan tikus jantan sebagai hewan uji. Sebanyak 20 tikus, masing-masing dengan berat antara 150 - 200 g, dibagi kedalam empat kelompok: kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan yang menerima ekstrak etanol daun bidara dengan dosis 50 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB. Penelitian dimulai dengan pengambilan sampel darah untuk menilai kadar kreatinin awal diikuti dengan pemberian ekstrak secara oral sekali sehari diwaktu yang sama selama 14 hari.⁴ Selanjutnya, sampel darah dikumpulkan untuk analisis kreatinin akhir, dan prosedur pembedahan dilakukan untuk mengangkat organ ginjal.⁶ Pengukuran kadar kreatinin dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar.

Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Spesimen ginjal yang telah diambil direndam dalam larutan Buffered Neutral Formaline 10%, kemudian dilakukan pembuatan preparat. Pembuatan dan pewarnaan preparat dilakukan di Balai Besar Veteriner Maros. Adapun tahapan pembuatan preparat terdiri atas fiksasi dengan Buffered Neutral Formaline (BNF), pemotongan spesimen dengan ketebalan 0,5-1 cm, kemudian dilakukan processing dan embedding dengan beberapa reagen dan waktu tertentu. Blok parafin yang telah terbentuk selanjutnya dilakukan pemotongan menggunakan microtome knife kemudian dilakukan pewarnaan menggunakan metode Hematoxylin-Eosin. Preparat histopatologi diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan diamati perubahan yang terjadi pada lima lapang pandang. Perubahan yang diamati adalah degenerasi lemak, radang, kongesti dan nekrosis.⁷

Analisa data

Data yang diperoleh berupa kadar kreatinin dianalisis secara statistik menggunakan uji T-berpasangan.

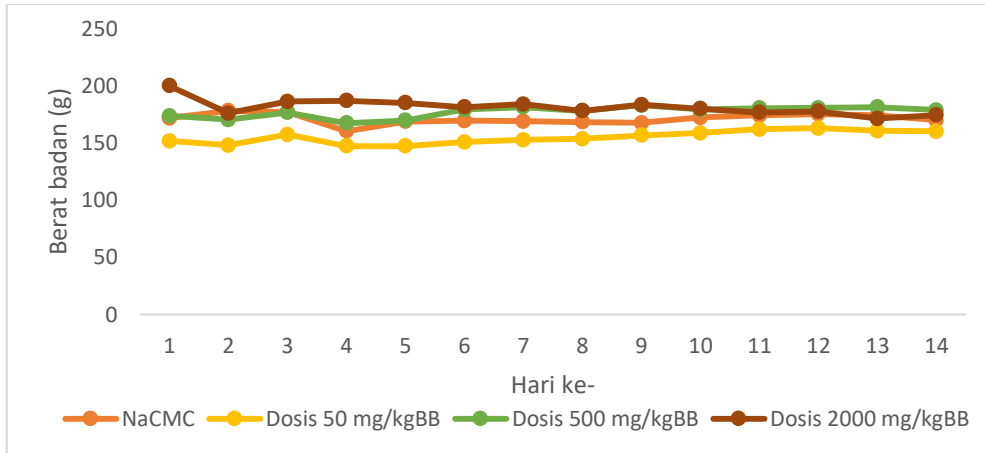
Hasil

Hasil pengukuran kadar kreatinin sebelum dan setelah pemberian ekstrak etanol daun bidara selama 14 hari ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Kreatinin Tikus sebelum dan setelah Pemberian Ekstrak selama 14 Hari

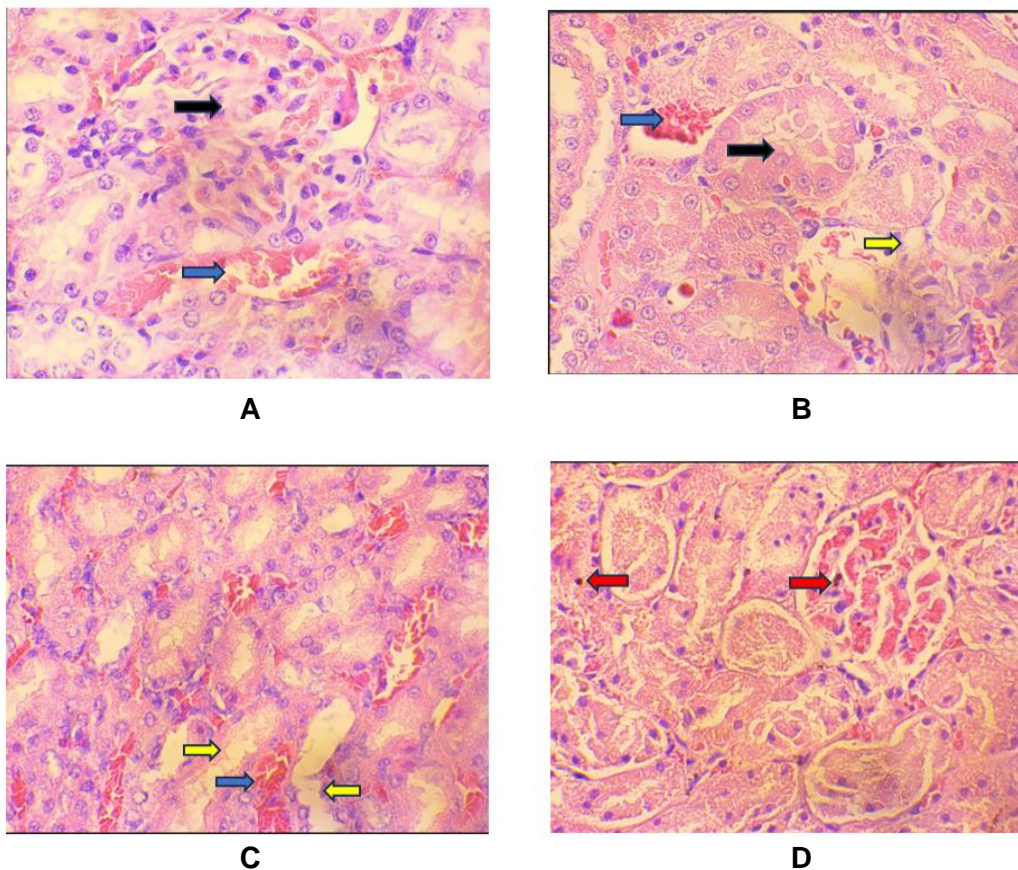
Kelompok	Kadar Kreatinin hari ke- (mg/dL)	
	0	14
NaCMC	0.31±0.06	0.33±0.10
Dosis 50 mg/kgBB	0.28±0.04	0.37±0.08
Dosis 500 mg/kgBB	0.29±0.06	0.28±0.03
Dosis 2000 mg/kgBB	0.32±0.04	0.3±0.03

Hasil pengukuran berat badan selama 14 dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Grafik perubahan rerata berat badan selama 14 hari

Hasil pengamatan histopatologi dapat dilihat pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Gambaran histopatologi organ ginjal setelah pemberian ekstrak selama 14 hari. (A) NaCMC; (B) Dosis 50 mg/kg BB; (C) Dosis 500 mg/kgBB; (D) Dosis 2000 mg/kgBB; Radang (panah hitam); Kongesti (panah biru); Degenerasi (panah kuning); Nekrosis (panah merah)

Pembahasan

Penggunaan obat tradisional secara berulang membutuhkan data keamanan dalam penggunaannya agar masyarakat dapat menggunakan obat tradisional dengan aman dan efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan dari ekstrak setelah penggunaan berulang. Pada penelitian ini, digunakan tiga tingkatan dosis yaitu 50 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 2000 mg/kg BB yang diberikan terhadap hewan uji tikus selama 14 hari. Parameter yang digunakan berupa kadar kreatinin dan gambaran histologi ginjal.

Hasil penelitian yang diperoleh setelah perlakuan selama 14 hari pada tabel 1 menunjukkan bahwa kadar kreatinin pada kontrol NaCMC dan dosis 50 mg/kg BB menunjukkan adanya sedikit peningkatan. Pada dosis 500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB sebaliknya menunjukkan sedikit penurunan kadar kreatinin. Hasil uji t-berpasangan menunjukkan bahwa perubahan kadar kreatinin baik peningkatan ataupun penurunan setelah perlakuan selama 14 hari tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Hal ini berarti pemberian ekstrak etanol daun bidara selama 14 hari tidak memperlihatkan adanya pengaruh terhadap ginjal tikus.

Berdasarkan gambar 1 hasil pengukuran berat badan selama periode penelitian menunjukkan adanya fluktuasi berat badan hewan uji tetapi tidak menunjukkan perubahan yang berarti dan diakhir penelitian memperlihatkan berat hewan yang hampir sama pada tiap-tiap kelompok. Hal ini berarti pemberian ekstrak etanol daun bidara tidak memberikan pengaruh terhadap berat badan tikus.

Pada akhir pengujian, hewan uji dikorbankan kemudian dilakukan pembedahan dan dilakukan pemeriksaan histopatologi organ ginjal. Pemeriksaan ini dilakukan untuk memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bidara selama 14 hari terhadap organ ginjal. Pemeriksaan organ ginjal ini dilakukan karena ginjal diketahui merupakan salah satu organ yang berpotensi mengalami toksisitas dari suatu senyawa yang masuk ke dalam tubuh. Ginjal merupakan organ yang berfungsi melakukan filtrasi untuk mengeluarkan senyawa-senyawa atau zat-zat yang tidak dibutuhkan atau dianggap asing oleh tubuh.

Gambar 2 menunjukkan hasil pemeriksaan mikroskopik histopatologi ginjal tikus. Preparat ini menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Perubahan histopatologi atau bentuk kerusakan yang akan diamati adalah kongesti, peradangan, degenerasi dan nekrosis. Gambar 5A yang merupakan kontrol ditemukan adanya perubahan pada gambaran mikroskopik berupa degenerasi sel, kongesti, hemoragi dan peradangan namun masih dalam kategori ringan. Perubahan histopatologi pada kelompok kontrol ini dapat terjadi akibat faktor eksternal seperti adanya racun, infeksi dan trauma dapat mempengaruhi kondisi kesehatan hewan sebelum digunakan yang tidak dapat dideteksi dari pemeriksaan kadar kreatinin awal.⁷ Sudira melaporkan bahwa penggunaan hewan coba yang tidak bersifat *Specific Pathogen Free* (SPF) biasanya menyebabkan munculnya perubahan histopatologi yang tidak diharapkan pada kelompok kontrol.⁸

Perubahan histopatologi yang terjadi karena pemberian ekstrak etanol daun bidara dapat disebabkan karena banyaknya komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak. Kerusakan ginjal yang awal terjadi adalah degenerasi lemak pada sel-sel tubulus. Degenerasi lemak terjadi pada semua kelompok dan paling banyak terjadi pada dosis 500 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB. Hal ini mungkin disebabkan karena kelompok tersebut mendapatkan dosis yang lebih besar. Degenerasi lemak merupakan kerusakan yang bersifat reversible yang dapat pulih kembali.⁹ Degenerasi merupakan keadaan dimana sel kehilangan struktur dan fungsi normal yang kemudian menuju kematian sel karena gangguan suplai oksigen, seperti keracunan dan kekurangan bahan esensial tertentu. Degenerasi lemak terjadi akibat akumulasi lemak abnormal di dalam sitoplasma dengan vakuola dengan besar yang bervariasi dan mendesak inti ke tepi.¹⁰ Gangguan fungsi sel

dapat terjadi jika terdapat timbunan lemak yang berlebih sehingga dapat menyebabkan perubahan perlemakan dalam sel dan dapat menyebabkan nekrosis.¹¹

Nekrosis merupakan suatu keadaan dimana sel mengalami perubahan yang mengarah pada kematian sel. Nekrosis dapat disebabkan oleh infeksi, inflamasi atau iskemia. Kerusakan permeabilitas dapat memicu aktivitas enzim yang dapat menyebabkan nekrosis. Kerusakan sel dapat terjadi akibat volume sel yang meningkat dan hilangnya tekanan membran yang disebabkan karena pelepasan enzim lisosom seperti protease dan nuclease sehingga sel mengalami lisis yang diikuti dengan respon inflamasi.¹² Nekrosis terjadi pada sel-sel yang telah melewati fase mitosis dengan rantai DNA yang tidak bisa diperbaiki sehingga menyebabkan kerusakan kromosom.¹³ Nekrosis tidak terlihat pada kelompok NaCMC, sementara terlihat sedikit kejadian pada kelompok dosis 50 mg/kgBB. Kejadian nekrosis yang lebih banyak terlihat pada kelompok dosis 500 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB.

Peradangan terjadi karena adanya kerusakan sel pada pembuluh darah dan jaringan ikat. Infiltrasi peradangan sebagian terjadi di sekitar jaringan yang mengalami nekrosis dan disekitar kapiler yang mengalami kongesti Berdasarkan hasil pemeriksaan, peradangan terlihat pada semua kelompok. Peradangan terlihat semakin banyak pada dosis 500 mg/kg BB dan 2000 mg/kg BB. Hal ini sesuai dengan kejadian nekrosis. Leukosit dapat meninggalkan pembuluh darah keluar ke lokasi nekrosis untuk melakukan fagositosis.¹⁴ Keluarnya sel darah putih merupakan respon imun jika terjadi kerusakan yang dapat menginduksi terjadinya peradangan. Peradangan merupakan respon protektif akibat cedera atau kerusakan untuk menghancurkan, mengurangi atau menangkap penyebab cedera maupun jaringan yang cedera.

Nekrosis yang terjadi dapat juga memicu pelepasan histamin dari sel-sel di sekitarnya. Pelepasan histamin dapat menyebabkan dilatasi kapiler sehingga terjadi peningkatan aliran darah. Peningkatan aliran darah ke jaringan dapat menyebabkan kongesti. Kongesti terlihat pada semua kelompok dengan tingkat keparahan yang berbeda. Kelompok dosis 2000 mg/kg BB menunjukkan kejadian kongesti yang lebih banyak dibandingkan kelompok yang lain.

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi ginjal terlihat bahwa secara umum dosis 2000 mg/kg BB yang menunjukkan kerusakan yang lebih besar dibandingkan kelompok yang lain. Walaupun jika dibandingkan dengan kadar kreatinin yang menunjukkan adanya sedikit penurunan. Adanya perubahan anatomi ginjal tidak secara signifikan mempengaruhi kadar kreatinin hewan coba. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Owolarafe menggunakan ekstrak air menunjukkan adanya kerusakan berupa kongesti dan dilatasi pada tubulus ginjal setelah pemberian ekstrak selama 21 hari dengan dosis tertinggi 1000 mg/kgBB.¹⁵ Kerusakan yang terjadi dapat disebabkan karena adanya kandungan ekstrak yang bersifat nefrotoksik. Hasil ini dapat memberikan gambaran bahwa penggunaan dosis 500 mg/kgBB mulai memperlihatkan adanya gejala toksik secara histopatologi, sehingga disarankan untuk penggunaan secara berulang menggunakan dosis yang lebih rendah.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun bidara hingga dosis 2000 mg/kgBB selama 14 hari tidak mempengaruhi fungsi ekskresi ginjal secara signifikan, tetapi dapat menyebabkan kerusakan struktural pada ginjal, terutama pada dosis tinggi. Kerusakan tersebut bersifat ringan hingga sedang dan dapat dijelaskan oleh mekanisme biologis yang telah dijabarkan di atas. Studi lebih lanjut diperlukan untuk mengevaluasi efek toksik dalam durasi yang lebih panjang dengan parameter yang berbeda untuk mendeteksi kerusakan ginjal secara lebih sensitif.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol dengan dosis 50 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 2000 mg/kg BB selama 14 hari tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap kadar kreatinin tikus jantan tetapi memperlihatkan adanya perubahan pada gambaran histopatologi berupa hemoragi, kongesti, peradangan, degenerasi dan nekrosis ringan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor Universitas Muslim Indonesia karena telah memberikan dana penelitian, Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia sebagai tempat penelitian, Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar dan Balai Besar Veteriner Maros yang telah membantu pengerjaan penelitian.

Daftar Pustaka

1. BPOM RI. Peraturan badan pengawas obat dan makanan nomor 10 tahun 2022 tentang pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indones. 2022;
2. Wahyudi W, Hsb HLP, Hasan N, Sitorus RAH. Studi literatur: daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) sebagai herbal indonesia dengan berbagai kandungan dan efektivitas farmakologi. *J Farmanesia*. 2022;9(1).
3. Naaz F, Agari N, Singh A. Medicinal properties of *Ziziphus mauritiana* : a review article introduction [Internet]. Vol. 19. 2020.
4. Dhuha NS, Haeria H, Putri HE. Toksisitas akut ekstrak etanol daun bidara (*Ziziphus spina-christi* L.) berdasarkan gambaran morfologi dan histologi hati mencit. *ad-Dawaa' J Pharm Sci*. 2019;2(1).
5. Rusdi M, Hasan T, Ardillah A, Evianti E. Perbandingan metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan batang boehmeria virgata. *ad-Dawaa' J Pharm Sci*. 2018;1(1).
6. Jannah DR, Budijastuti W. Gambaran histopatologi toksisitas ginjal tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi sirup umbi yakon (*Smallanthus sonchifolius*). *LenteraBio Berk Ilm Biol*. 2022;11(2).
7. Darmayanti MD, Samsuri S, Setiasih NLE, Berata IK. Kidney histopathological alteration of white rats after 21 days consumed tape yeast. *Indones Med Veterinus*. 2020;9(6).
8. Sudira W, Merdana M, Winaya IBO, Parnayasa IK. Perubahan histopatologi ginjal tikus putih yang diberikan ekstrak sarang semut diinduksi parasetamol dosis toksik. *Bul Vet Udayana*. 2019;
9. Leptospira I, Mulyono A, H NS. Karakteristik histopatologi hepar tikus got histopathology characterization of norway rat ' s liver *rattus norvegicus* infected by leptospira sp . bahan dan metode 1 . lokasi / pengambilan sampel tikus sampling tikus dilakukan di kelurahan miroto , kecam. 1(2):84–92.
10. Fahrimal Y, R R, Aliza D. Gambaran histopatologis ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diinfeksi trypanosoma evansi dan diberi ekstrak daun sernai (*Wedelia biflora*) (histopathology of male rat (*Rattus norvegicus*) kidney infected with trypanosoma evansi and treated. *J Med Vet*. 2016;10(2).
11. Suhita NLP, Sudira IW, Winaya IBO. Histopatologi ginjal tikus putih akibat pemberian kestrak pegagan (*Centella asiatica*) peroral. *Udayana Vet Bull*. 2013;5.
12. Purwaningsih E. Pemendekan telomer dan apoptosis telomere shortening and apoptosis. *J Kedokt Yars*. 2014;22(2).
13. Hasan I, Djakaria HM. Kematian sel akibat radiasi. *J Indones Radiat Oncol Soc Radioter*. 2013;44(2).

14. Kamal Z, Sasmito E. Pengaruh infusa wortel (*Daucus Carota L.*) terhadap histopatologi ginjal tikus jantan yang diinduksi uranium. *J Kedokt Yars.* 2013;21(1).
15. Owolarafe T, Ihegboro G, Salawu K, Ononamadu C, Fadilu M, Musa B. Toxicological investigation of aqueous extract of *Ziziphus mauritiana* leaves on wistar rats. *Int J Tradit Complement Med Res.* 2022;3(2):91–100.