



Uji Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya Koenigii* (L.) Spreng) Terhadap Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) Dan Kreatinin Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Doksorubisin

¹Yuziani, ²Arvinnia Tanida Harefa, ³Khairunnisa Z

^{1,2,3} Fakultas Kedokteran Universitas Malikussaleh

Korespondensi penulis: arvinniatanida@gmail.com

Abstract: Cancer is one of the leading causes of death in the world. A highly-effective therapy in cancer is chemotherapy using doxorubicin. Sustainable doxorubicin usage could damage the kidneys due to Reactive Oxygen Species (ROS) formation that could be seen by increased levels of BUN and creatinine. Curry leaves are commonly found in Aceh and has high antioxidant rate so it has the potential to suppress kidney damage due to the use of doxorubicin. These antioxidants could be useful for decreasing levels of BUN and creatinine. The purpose of this research is to test the nephroprotective effect of Ethanol Extract of Curry Leaves (EECL) to prevent kidney failure on doxorubicin induced wistar strain male white rats. The method of this research is experimental with post test only control group design. The number of samples used was 25 rats which were divided into 5 groups. Positive control group (given vitamin E), negative control group (given CMC-Na 0,5%), and treatment groups (given EECL at doses 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, and 200 mg/kgBB) orally for 7 days straight and doxorubicin 15 mg/kgBB was induced on the 8th day. The results show that the BUN levels in the treatment group given EECL at doses 50 mg/kgBB and 100 mg/kgBB are close to the positive control group, but the creatinine levels are still significantly different. Meanwhile, the treatment group that was given EECL at dose 200 mg/kgBB, both BUN and creatinine levels, are close to the positive control group. The conclusion of this study is that EECL has a nephroprotective effect on doxorubicin induced rats and the most effective dose is 200 mg/kgBB.

Keywords: Doxorubicin, *Murraya koenigii* (L.) Spreng, Nephroprotective, Creatinine, BUN.

Abstrak: Kanker adalah salah satu penyebab kematian terbanyak di dunia. Terapi yang memiliki efektivitas cukup tinggi dalam tatalaksana kanker adalah kemoterapi dengan doksorubisin. Penggunaan doksorubisin berkelanjutan dapat merusak ginjal akibat terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang ditandai dengan peningkatan kadar BUN dan kreatinin. Daun kari merupakan daun yang banyak ditemukan di Aceh dan memiliki antioksidan tinggi sehingga berpotensi untuk menekan kerusakan ginjal akibat penggunaan doksorubisin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (EEDK) untuk mencegah terjadinya kerusakan ginjal akibat penggunaan doksorubisin pada tikus putih jantan galur wistar. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental dengan desain *post test only control group*. Jumlah sampel yang digunakan adalah 25 tikus yang terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok kontrol positif (diberi vitamin E), kelompok kontrol negatif (diberi CMC-Na 0,5%), dan 3 kelompok perlakuan (diberi EEDK dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB) yang diberikan secara oral selama 7 hari berturut-turut dan diinduksikan doksorubisin 15 mg/kgBB pada hari ke-8. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar BUN kelompok perlakuan yang diberikan EEDK dengan dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB sudah mendekati kelompok kontrol positif, namun untuk kadar kreatinin masih berbeda secara signifikan. Sedangkan, kelompok perlakuan yang diberikan EEDK dengan dosis 200 mg/kgBB, baik kadar BUN maupun kreatininnya, sudah mendekati kelompok kontrol positif. Kesimpulan penelitian ini adalah EEDK memiliki efek nefroprotektif pada tikus yang diinduksi doksorubisin dan dosis yang paling efektif adalah 200 mg/kgBB.

Kata kunci: Doksorubisin, *Murraya koenigii* (L.) Spreng, Nefroprotektif, Kreatinin, BUN.

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah salah satu penyebab kematian terbanyak di dunia. Global Cancer Observatory (Globocan) menyebutkan bahwa kanker menyumbang 18,1 juta kasus baru dengan 9,6 juta kasus kematian di seluruh dunia pada tahun 2018. Di Indonesia, prevalensi kanker pada penduduk semua umur adalah 1,79%. Dan untuk provinsi Aceh sendiri, prevalensi kanker pada

Received Juni 30, 2023; Revised Juli 26, 2023; Accepted Agustus 22, 2023

* Arvinnia Tanida Harefa, arvinniatanida@gmail.com

penduduk semua umur mencapai 2%. Untuk itu, diperlukan metode terapi yang efektif dan aman bagi para pasien, seperti radioterapi, kemoterapi, dan sebagainya.

Kemoterapi sendiri merupakan salah satu terapi kanker dengan efektivitas yang cukup tinggi. Hal ini dapat dilihat dari efektivitas kemoterapi dalam meregresi sel tumor (penyusutan massa sel tumor hingga menjadi seukuran massa sel normal). Berbagai jenis obat kemoterapi telah digunakan dalam pengobatan kanker, salah satunya doksorubisin. Doksorubisin ini sendiri merupakan salah satu jenis obat kemoterapi yang telah digunakan selama lebih dari 30 tahun. Tetapi, penggunaan doksorubisin memiliki beberapa efek samping yang tidak bisa diabaikan, diantaranya kardiotosisitas, hepatotosisitas, dan nefrotosisitas.

Doksorubisin dapat memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menimbulkan kerusakan ginjal. ROS nantinya dapat merusak sel-sel tubulus proksimal, endotel, membran basalis, sel mesangial, dan sel viseral glomerulus. Sel-sel yang rusak tersebut akan mengaktifkan makrofag lewat *Toll-Like Receptor 4* (TLR4), sehingga mengekspresikan sitokin-sitokin, salah satunya adalah TGF-beta1. Selanjutnya, ikatan TGF-beta1 pada reseptor membran sel fibroblas interstisial ginjal akan memicu terjadinya interstisial fibrosis yang akan mengakibatkan kerusakan jaringan permanen pada ginjal. Kerusakan ini dapat menurunkan laju filtrasi glomerulus yang kemudian akan menyebabkan penumpukan *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin, hingga akhirnya menyebabkan gagal ginjal akut.

BUN (*Blood Urea Nitrogen*) atau ureum sendiri merupakan zat sisa katabolisme protein yang terbentuk di hati dan direabsorpsi di ginjal. Sedangkan, kreatinin adalah hasil akhir metabolisme kreatin fosfat dari katabolisme otot yang merupakan salah satu sumber energi yang dibentuk di otot secara konstan tergantung massa otot tersebut.

Gagal ginjal akut yang tidak ditangani dengan baik, nantinya akan berubah menjadi gagal ginjal kronik. Sekitar 5-10% penduduk dunia mengalami gagal ginjal kronik. Di Indonesia sendiri, menurut data Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar), pada tahun 2018, prevalensi gagal ginjal kronik pada penduduk umur ≥ 15 tahun adalah 0,38%. Dan untuk provinsi Aceh, prevalensi gagal ginjal kronik pada penduduk umur ≥ 15 tahun adalah 0,49%. Sehingga diperlukan suatu agen yang dapat menurunkan berbagai efek samping dari penggunaan doksorubisin tersebut.

Senyawa flavonoid diduga dapat menurunkan efek samping dari penggunaan doksorubisin tersebut. Dimana flavonoid akan berperan sebagai antioksidan ekstrasel dengan cara menghambat enzim yang bertanggung jawab untuk memproduksi radikal anion superoksida, seperti protein kinase C dan xantin oksidase. Flavonoid juga dapat menurunkan ROS yang terbentuk dengan tiga mekanisme. Pertama, ROS dapat dihambat oleh flavonoid

dengan cara menetralkan ROS melalui proses pemberian elektron pada ROS. Selanjutnya, enzim penghambat ROS, seperti katalase, glutathion peroksidase, dan sodium dismutase, ditingkatkan efektivitasnya oleh flavonoid. Terakhir, flavonoid dapat menghambat enzim siklooksigenase, monooksigenase mikrosom, lipoksigenase, NADH oksidase, dan *Glutathione S-transferase* (GSH) yang terlibat dalam pembentukan ROS.

Selain itu, flavonoid juga dapat mencegah stress oksidatif di ginjal dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan *Glutathione S-transferase* (GSH), meningkatkan pembentukan GSH, dan memerangkap ROS secara langsung dengan cara mendonorkan atom H dari gugus hidroksil (OH) ke senyawa radikal bebas, sehingga senyawa radikal bebas yang terbentuk menjadi tidak reaktif. Dan senyawa flavonoid yang menjadi donor juga dapat berubah menjadi senyawa flavonoid radikal yang akan berikatan dengan senyawa flavonoid radikal lainnya menjadi bentuk yang tidak reaktif.

Flavonoid ini dapat ditemukan di dalam semua tumbuhan berwarna hijau, sehingga tentunya dapat ditemukan juga pada setiap ekstrak tumbuhan, termasuk tanaman kari. Tanaman kari sendiri merupakan salah satu tanaman yang banyak dan sangat mudah ditemukan di provinsi Aceh. Tanaman kari, atau yang disebut dengan daun “temurui” oleh masyarakat Aceh, dimanfaatkan secara luas sebagai bumbu penyedap makanan dan ternyata memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Aktivitas antioksidan daun kari tersebut dapat membantu menurunkan kadar BUN dan kreatinin ginjal. Hal ini juga sudah dijelaskan dalam beberapa penelitian. Dimana berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nadia Savira (2018) tentang efek nefroprotektif daun kari terhadap induksi gentamisin, didapatkan hasil bahwa penggunaan EEDK dengan dosis 100mg/kgBB mampu menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus yang telah diinduksi gentamisin mendekati kadar BUN dan kreatinin tikus kelompok kontrol positif. Dalam penelitian ini, digunakan tikus putih sebagai hewan uji coba karena tikus putih merupakan hewan yang dapat mewakili sistem biologis manusia.

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk menguji efek EEDK dengan dosis 50mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 200mg/kgBB sebagai nefroprotektif terhadap kadar BUN dan kreatinin tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi doksorubisin. Hal ini dilakukan karena peneliti ingin melihat kemampuan EEDK untuk mencegah terjadinya nefrotoksisitas yang disebabkan oleh penggunaan obat selain gentamisin, yaitu doksorubisin.

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Tanaman Kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Indonesia memiliki banyak sekali ragam jenis tanaman yang memiliki banyak kegunaan seperti sebagai sumber obat, tanaman pelindung, dan sebagai bahan pangan. Di antara berbagai jenis tanaman tersebut, ada beberapa tanaman yang memiliki sifat antioksidan, salah satu contoh tanaman yang memiliki sifat itu adalah tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) yang banyak ditemukan di provinsi Aceh.

2.1.1 Klasifikasi tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Berikut adalah klasifikasi tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Ruttaceae</i>
Genus	: <i>Murraya</i>
Spesies	: <i>Murraya koenigii</i> (L.) Spreng



Gambar 2.1 Tanaman Kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Sumber: Data Primer, 2021

2.1.2 Manfaat tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) umumnya digunakan di berbagai masakan khas Aceh sebagai penyedap makanan karena bisa memberikan aroma yang kuat dan cita rasa yang khas. Selain dapat digunakan sebagai penyedap makanan, daun kari juga bisa dimanfaatkan di industri aromaterapi, sabun, dan kosmetik karena kandungan minyak atsirinya. Residu rebusan daun kari dengan minyak kelapa juga dapat digunakan sebagai tonik rambut yang berfungsi baik untuk mempertahankan rambut alami dan merangsang

pertumbuhan rambut. Secara tradisional daun ini juga telah sering digunakan sebagai obat luka, pengobatan penyakit rematik, disentri, diare, dan gigitan ular.

2.1.3 Kandungan tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Kandungan yang dimiliki tanaman kari antara lain air (66,3%), protein (1%), lemak (1%), karbohidrat (16%), serat (6,4%), dan mineral (4,2%). Untuk kandungan mineral utama per 100 gram daun kari memiliki 810 mg kalsium, 600 mg fosfor, dan 2,1 mg besi. Selain itu, daun kari juga memiliki kandungan vitamin berupa karoten (12.600 i.u.), asam nikotinat (2,3 mg), dan vitamin C (4 mg). Komponen minyak atsiri pada daun kari ada sebanyak 34 jenis, di antaranya α -pinena (51,7%), β -phellandrena (24,4%), sabinena (10,5%), β -pinena (9,8%), β -caryophyllene (5,5%), limonena (5,4%), bornyl acetate (1,8%), terpinen-4-ol (1,3%), γ terpinena (1,2%) dan α -humulena. Selain itu, tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) juga mengandung beberapa senyawa, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid.

A. Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu senyawa polifenol terbesar yang mengandung 15 atom karbon, terdiri atas dua cincin benzen yang terhubung menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri atas 3 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆.

Flavonoid terdapat pada semua bagian tanaman termasuk akar, bunga, biji, buah, daun, kayu, dan kulit. Flavonoid memiliki sifat antioksidan yang membuat senyawa ini memiliki peran sebagai penangkap radikal bebas karena memiliki gugus hidroksil. Sifat antioksidan ini bersifat lebih kuat dibandingkan vitamin C dan E, hingga dapat mencegah terjadinya luka akibat radikal bebas dengan mekanisme tertentu, berupa penangkapan langsung *Reactive Oxygen Species* (ROS), aktivasi enzim antioksidan, aktivitas pengkelatan logam, reduksi radikal α -tocopheryl, penghambatan oksidasi, mitigasi stress oksidatif akibat oksida nitrat, peningkatan kadar asam urat, dan peningkatan sifat antioksidan dengan antioksidan molekul terendah. Selain itu, flavonoid juga dapat bersifat sebagai reduktor, sehingga dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas.

Flavonoid sendiri juga mengandung senyawa aromatik yang terkonjugasi, sehingga menunjukkan pita serapan yang kuat pada sinar tampak dan spektrum UV. Flavonoid umumnya ditemukan dalam bentuk terikat dengan gula, yang disebut glikosida. Oleh karena itu, sebelum melakukan analisis flavonoid disarankan untuk melakukan hidrolisis ekstrak tumbuhan terlebih dahulu untuk memecah ikatan gula dengan aglikon.

B. Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu senyawa kimia yang bersifat basa, memiliki satu atau lebih atom nitrogen, dan biasanya tergabung sebagai bagian sistem siklik. Sifat basa yang dimiliki alkaloid menyebabkan senyawa ini mengalami dekomposisi akibat adanya sinar atau oksigen. Terdapat tiga pereaksi yang bisa digunakan dalam pemeriksaan senyawa kimia untuk mendeteksi golongan alkaloid, yaitu pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendroff.

C. Tanin

Berdasarkan cara pembentukan dan identitas inti fenoliknya, tanin dibagi menjadi:

1. Tanin terhidrolisis (*hydrosable tannin*)

Tanin jenis ini biasanya berikatan pada karbohidrat dengan membentuk jembatan oksigen dan dapat dihidrolisis dengan menggunakan asam klorida atau asam sulfat ataupun enzim. Prekursor pembentukan tanin ini adalah asam fenolit (asam galat dan asam elagit) dan residu glukosa yang diantaranya terdapat ikatan ester.

2. Tanin terkondensasi (*condensed tannin*)

Tanin jenis ini biasanya tidak dapat dihidrolisis, namun terkondensasi membentuk asam klorida. Tanin terkondensasi ini kebanyakan terdiri dari polimer flavanoida yang merupakan senyawa fenol. Prekursor pembentukan tanin jenis ini adalah flavanoida, flavanol-3-4-diol, dan catechin.

3. Tanin kompleks (*complex tannin*)

Tanin jenis ini adalah campuran dari tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi.

D. Saponin

Saponin adalah golongan senyawa yang banyak ditemukan pada tanaman yang tinggi, memiliki rasa yang pahit, dapat membentuk larutan koloidal dalam air, dan jika dikocok di dalam air bisa menghasilkan busa. Saponin memiliki aglikon yang disebut dengan sapogenin. Saponin memiliki sifat seperti sabun dan dapat diuji berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Adanya pembentukan busa yang terjadi saat mengekstraksi tanaman atau saat melakukan pemekatan ekstrak tanaman dipercaya menjadi bukti adanya kandungan saponin dalam tanaman tersebut.

E. Triterpenoid/steroid

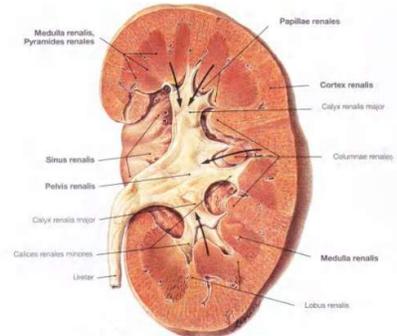
Triterpenoid adalah senyawa yang memiliki kerangka karbon yang berasal dari enam satuan isopren dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualen. Triterpenoid memiliki struktur siklik yang relatif kompleks yang kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehid, atau karboksilat.

Jika dikelompokkan berdasarkan asalnya, steroid dapat dibagi menjadi:

1. Zoosterol, yaitu steroid yang berasal dari hewan, contohnya adalah kolesterol.
2. Fitosterol, yaitu steroid yang berasal dari tumbuhan, contohnya adalah sitosterol dan stigmasterol.
3. Mycoesterol, yaitu steroid yang berasal dari fungi, contohnya adalah ergosterol.
4. Marinesterol, yaitu steroid yang berasal dari organisme laut, contohnya adalah spongesterol.

2.2 Ginjal

2.2.1 Anatomi dan fisiologi ginjal



Gambar 2.2 Anatomi Ginjal

Ginjal merupakan salah satu organ saluran kemih yang berbentuk seperti kacang dengan panjang lingkaran sekitar 12-13 cm, lebar lingkaran 6 cm, tebalnya 2,5 cm, dan beratnya sekitar 150 gram. Ginjal terletak pada dinding abdomen di luar rongga peritoneum, yang terletak sejajar dengan vertebra thorakalis dua belas (T12) sampai vertebra lumbalis tiga (L3). Ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah dari ginjal kiri karena adanya tekanan dari organ lain, yaitu hati. Masing-masing ginjal diselubungi oleh kapsul fibrosa dan dikelilingi oleh lemak perinefrik, dan di bagian terluar juga diselubungi oleh fascia perinefrik bersamaan dengan kelenjar adrenal.

Ginjal memiliki sisi cekung yang menghadap ke arah medial, cekungan ini disebut dengan hilus renalis, yang terdiri atas sistem saraf, sistem limfatik, pembuluh darah, dan ureter. Secara anatomis, ginjal dibagi menjadi bagian korteks dan medula. Korteks ginjal berada lebih superfisial dan di dalamnya terdapat banyak nefron, yaitu unit fungsional terkecil ginjal. Sedangkan, medula berada lebih profundus dan terdiri dari tubulus proksimal, lengkung henle, tubulus distal, dan tubulus pengumpul (koligens).

Ginjal memiliki beberapa fungsi, yaitu:

1. Mengekskresikan zat-zat yang merugikan tubuh.
2. Mengekskresikan kelebihan gula dalam darah.
3. Mengatur konsentrasi garam dalam darah dan keseimbangan asam-basa darah.

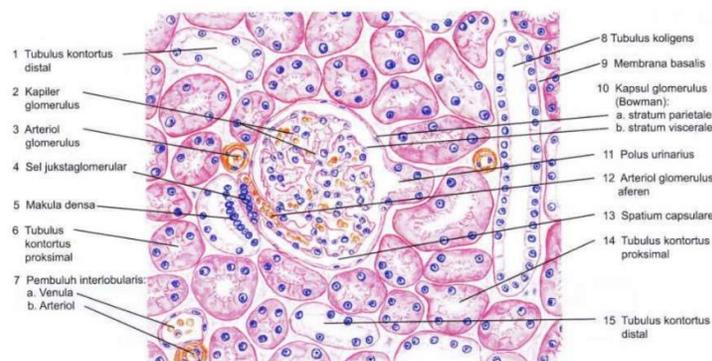
4. Mempertahankan pH plasma darah pada kisaran 7,4 melalui pertukaran ion hidronium dan hidroksil.
5. Mengatur tekanan arteri.
6. Mengatur produksi eritrosit.

Mekanisme ekskresi yang dilakukan oleh ginjal dimulai dengan darah memasuki glomerulus melalui arterioler aferen dan meninggalkannya melalui arterioler eferen. Tekanan darah di dalam glomerulus menyebabkan cairan difiltrasikan ke dalam kapsula bowman, lalu mengalir ke tubulus proksimal, lengkung henle, tubulus distal dan berakhir di tubulus pengumpul yang berfungsi mengumpulkan cairan dari beberapa nefron. Saat filtrat glomerulus mengalir melewati tubulus pengumpul, sebagian besar air dan zat yang terlarut di dalamnya direabsorpsi ke dalam kapiler peritubulus dan sejumlah kecil solut lain disekresikan ke dalam tubulus. Nantinya, seluruh zat yang tertinggal di tubulus akan bermuara di pelvis ginjal, lalu dikeluarkan dari tubuh dalam bentuk urin. Lebih dari 180 liter cairan tubuh difiltrasi di glomerulus dan akan menghasilkan 1-2 liter urin setiap harinya.

Ginjal merupakan salah satu organ yang paling rentan terkena efek toksik karena ginjal memiliki peran dalam mengkonsentrasikan zat toksik pada filtrat, membawa zat toksik melalui sel tubulus dan mengaktifkan zat toksik tertentu.

2.2.2 Gambaran histologi ginjal

Setiap ginjal terdiri atas 1-4 juta unit kerja fungsional yang disebut sebagai nefron. Nefron terdiri atas dua komponen, yaitu korpuskulum renal (bagian yang melebar) dan tubuli distal (tubulus kontortus proksimal, ansa henle, tubulus kontortus distal, dan tubulus koligentes). Setiap korpuskulum renal memiliki diameter 200 μm dan tersusun atas seberkas kapiler yang disebut sebagai glomerulus. Glomerulus tersusun atas gelungan kapiler arterioler afferen yang mengarah masuk dan arterioler eferen yang mengarah keluar dan dikelilingi oleh susunan sel epitel pipih selapis yang disebut kapsula bowman.



Gambar 2.3 Gambaran Histologi Ginjal

Perbedaan yang terdapat di antara tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal yaitu tubulus kontortus proksimal asidofilik dengan batas yang tidak jelas, inti sedikit, dan banyak *brush border* dibandingkan dengan tubulus kontortus distal yang pucat, batas jelas, dan inti banyak.

2.3 BUN (*Blood Urea Nitrogen*) dan Kreatinin

BUN (*Blood Urea Nitrogen*) atau ureum adalah zat sisa dari katabolisme protein. Kadar ureum yang ada di dalam darah bergantung pada proses pemecahan protein di dalam hati yang kemudian disekresikan ke ginjal dan akhirnya di ekskresikan melalui urin. Reabsorpsi ureum bisa terjadi akibat adanya reabsorpsi H₂O yang berlangsung akibat reabsorpsi aktif Na⁺ di tubulus proksimal dan kemudian menghasilkan gradien konsentrasi untuk ureum yang mendorong reabsorpsi pasif bahan sisa ini. Reabsorpsi besar-besaran H₂O yang terjadi di tubulus proksimal secara bertahap akan mengurangi filtrat, dari yang semula 125 ml/menit menjadi 44 ml/menit cairan yang tertinggal di lumen di akhir tubulus proksimal. Bahan-bahan sisa yang telah terfiltrasi tetapi belum terabsorpsi di tubulus proksimal akan menjadi semakin pekat karena H₂O telah terabsorpsi dan salah satu bahan sisa ini adalah ureum. Sewaktu di filtrasi di glomerulus konsentrasi ureum identik dengan konsentrasinya di plasma yang masuk ke dalam kapiler peritubulus. Namun, jumlah ureum yang terkandung dalam 125 ml cairan yang difiltrasi di awal tubulus proksimal terkonsentrasi menjadi tiga kali lipat di dalam 44 ml cairan yang tersisa di akhir tubulus proksimal. Oleh karena itu, konsentrasi ureum di dalam cairan tubulus menjadi jauh lebih besar jika dibandingkan dengan konsentrasi ureum di kapiler sehingga terbentuk gradien konsentrasi untuk ureum sehingga ureum akan berdifusi dari lumen tubulus ke dalam plasma kapiler peritubulus.

Penurunan dan peningkatan BUN dapat terjadi akibat beberapa hal. Beberapa hal yang dapat menyebabkan penurunan kadar BUN adalah penurunan asupan protein dan penyakit hati yang berat. Selain itu, BUN juga dapat mengalami peningkatan, yang disebut dengan azotemia. Peningkatan ureum dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu pra-renal, renal, dan pasca-renal.

Azotemia pra-renal disebabkan oleh berkurangnya aliran darah ke ginjal. Berkurangnya darah di ginjal akan menyebabkan jumlah ureum yang di filtrasi semakin sedikit. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan azotemia pra-renal, antara lain penyakit jantung kongestif, syok, perdarahan, dehidrasi, dan faktor lain yang dapat menurunkan aliran darah ginjal. Hal lain yang dapat menyebabkan peningkatan kadar ureum dalam darah adalah demam, diet tinggi protein, terapi kortikosteroid, dan perdarahan gastrointestinal akibat peningkatan katabolisme protein.

Azotemia renal disebabkan oleh penurunan fungsi ginjal yang menyebabkan ekskresi ureum dalam urin menurun. Hal ini umumnya terjadi pada gagal ginjal akut maupun kronis, glomerulonefritis, nekrosis tubuler, dan penyakit ginjal lainnya. Sedangkan, azotemia pasca-renal disebabkan oleh adanya obstruksi pada saluran kemih yang disebabkan oleh batu ginjal, tumor *vesica urinaria*, hiperplasia prostat, dan juga infeksi berat pada traktus urinarius. Peningkatan kadar ureum di dalam plasma merupakan salah satu karakteristik kimiawi pertama yang teridentifikasi sebagai gagal ginjal berat. Oleh karena itu, pengukuran kadar BUN digunakan sebagai ukuran kasar fungsi ginjal.

Pemeriksaan BUN dapat dilakukan di berbagai laboratorium klinik dan dapat diukur dari bahan pemeriksaan plasma, serum, maupun urin. Kadar normal ureum pada tikus berkisar antara 15-21 mg/dl, pada anjing berkisar antara 6-24 mg/dl, dan pada kucing berkisar antara 5-30 mg/dl. Pemeriksaan BUN biasanya dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan kreatinin.

Tabel 2.1 Nilai Rujukan Kadar Ureum

Spesimen	Nilai Rujukan	
Plasma atau Serum	6-20 mg/dl	2,1-7,1 mmol ureum/hari
Urin 24 Jam	12-20 g/dl	0,43-0,71 mmol ureum/hari

Kreatinin adalah produk penguraian kreatin. Kreatin disintesis di hati dan terdapat di hampir semua otot rangka yang berikatan dalam bentuk kreatin fosfat yang nantinya akan diubah menjadi kreatin kinase. Selanjutnya, sejumlah kecil kreatin fosfat akan diubah secara irreversibel menjadi kreatinin seiring dengan pemakaian energi, kemudian akan difiltrasi oleh glomerulus dan diekskresikan dalam urin. Satu sampai dua persen kreatin diubah menjadi kreatinin setiap harinya. Kreatinin merupakan zat yang ideal untuk mengukur fungsi ginjal, hal ini disebabkan karena kreatinin adalah produk hasil metabolisme tubuh yang diproduksi secara konstan, difiltrasi di ginjal, tidak direabsorpsi, dan disekresikan oleh tubulus proksimal.

The National Kidney Disease Education Program (NKDEP) merekomendasikan untuk menggunakan serum kreatinin untuk mengukur kemampuan filtrasi glomerulus untuk memantau perjalanan penyakit ginjal. Keadaan serum kreatinin yang meningkat di atas nilai rujukan normal dapat menegakkan diagnosis gagal ginjal. Ekskresi kreatinin oleh glomerulus dan tubulus ginjal akan menurun pada keadaan gagal ginjal dan uremia. Kadar kreatinin tidak hanya dipengaruhi oleh massa otot, tetapi dipengaruhi juga oleh aktivitas otot, diet, dan status kesehatan.

Penurunan kadar serum kreatinin dapat disebabkan oleh pembatasan protein diet, malnutrisi, bilirubin, penyakit hati kronis, dan penyakit ginjal. Peningkatan kadar kreatinin dapat disebabkan oleh kerusakan fungsi ginjal, keadaan ketotik, tingginya kadar glukosa dalam darah, latihan yang berat, dan mengonsumsi daging masak. Selain itu, peningkatan kadar

kreatinin juga dapat disebabkan oleh beberapa obat seperti sefalosporin, flusitosin, simetidin, dan trimetoprim dengan cara memblok tubulus yang mensekresi kreatinin. Pada umumnya, kadar kreatinin laki-laki lebih tinggi daripada perempuan, hal ini disebabkan karena laki-laki memiliki massa otot yang lebih besar daripada perempuan.

Kreatinin dapat diukur dari bahan pemeriksaan plasma, serum, maupun urin. Kadar kreatinin yang rendah dari pemeriksaan kadar kreatinin serum menunjukkan status nutrisi yang rendah, karena jumlah protein yang dikonsumsi sangat sedikit, sedangkan kadar kreatinin yang tinggi dari pemeriksaan kadar kreatinin serum menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal. Kadar kreatinin yang normal pada tikus berkisar 0,2-0,8 mg/dl, pada anjing berkisar antara 0,4-1,5 mg/dl, dan pada kucing berkisar antara 0,5-2,1 mg/dl.

Tabel 2.2 Nilai Rujukan Kadar Kreatinin

Populasi	Sampel	Rujukan Kadar
Pria Dewasa	Serum	0,9-1,3 mg/dl
Wanita Dewasa	Serum	0,6-1,1 mg/dl
Anak	Serum	0,3-0,7 mg/dl
Pria Dewasa	Urin 24 Jam	800-2000 mg/hari
Wanita Dewasa	Urin 24 Jam	600-1800 mg/hari

Jumlah ureum dan kreatinin yang mengalami penumpukan diketahui hampir sebanding dengan jumlah nefron yang mengalami kerusakan. Hal ini disebabkan karena ureum dan kreatinin bergantung pada filtrasi glomerulus untuk ekskresinya. Oleh karena itu, jika GFR menurun, maka laju ekskresi ureum dan kreatinin akan menurun sehingga menyebabkan terjadinya penumpukan ureum dan kreatinin dalam cairan tubuh dan meningkatkan konsentrasinya dalam plasma. Sebaliknya, jika GFR dalam batas normal, maka nilai kadar ureum dan kreatinin juga normal karena laju ekskresi ureum dan kreatinin dalam batas normal.

2.4 Doksorubisin

Doksorubisin yang sering juga disebut Adriamisin atau Adria adalah salah satu obat kemoterapi turunan antrasiklin yang merupakan hasil isolasi dari jamur *Streptomyces peucetius var. caesius*. Doksorubisin memiliki gugus hidroksil sehingga sering juga disebut sebagai *hydroxydaunorubicin*. Obat ini bisa digunakan pada berbagai macam jenis kanker seperti leukemia akut, kanker payudara, kanker tiroid, kanker ovarium, limfoma, kanker prostat, kanker serviks, kanker kandung kemih, dan kanker bronkus. Doksorubisin dipasarkan dalam bentuk infus dan dosis yang dianjurkan dalam penggunaannya adalah 60-75 mg/m² sebagai dosis tunggal secara intravena selama 21 hari.

Penggunaan doksorubisin dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti kardiotoxik, gangguan ginjal, reaksi hipersensitivitas, nekrosis jaringan, dan selulitis berat.

Untuk meminimalkan risiko terjadinya disfungsi jantung yang bersifat ireversibel disarankan untuk tidak menggunakan doksorubisin lebih dari 500 mg/m² permukaan tubuh.

Doksorubisin bekerja sebagai agen sitotoksik dalam terapi, yang mekanisme kerjanya yaitu melalui interkalasi DNA yang secara langsung memiliki pengaruh terhadap transkripsi dan replikasi, menghambat enzim yang berfungsi untuk replikasi dan perbaikan DNA yaitu topoisomerase II sehingga dapat menyebabkan apoptosis, pengikatan membran sel yang menyebabkan aliran dan transpor ion, dan membentuk radikal bebas pada sel kanker dan juga sel normal melalui radikal semiquinon yang bereaksi dengan oksigen.

Doksorubisin dapat menimbulkan efek nefrotoksik melalui pembentukan radikal bebas yang pada akhirnya menyebabkan kerusakan sel pada ginjal. Terjadinya efek nefrotoksik doksorubisin ditandai dengan adanya glomerulosklerosis, interstisial fibrosis, dan albuminuria. Mekanisme terjadinya efek nefrotoksik dari doksorubisin, yaitu melalui ikatan dengan reseptor membran tubulus proksimal yang kemudian akan merangsang enzim NADPH yang berada di mitokondria hingga membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS). Selanjutnya, ROS akan menyebabkan kerusakan pada sel-sel tubulus proksimal, membran basalis, endotel, dan juga glomerulus. Sel-sel yang rusak ini akan membentuk *debris* yang akan mengaktifkan makrofag lewat TLR-4, sehingga mengekspresikan sitokin-sitokin, seperti TNF- α 1, TGF- β 1, IL-1 β , IL-6, dan juga IL-8. Selanjutnya, ikatan sitokin pada reseptor membran sel fibroblas interstisial ginjal akan memicu terjadinya interstisial fibrosis yang akan mengakibatkan kerusakan jaringan permanen pada ginjal. Kerusakan ini dapat menurunkan laju filtrasi glomerulus yang nantinya akan menyebabkan penumpukan *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin hingga akhirnya menyebabkan gagal ginjal akut.

Penggunaan doksorubisin dosis tunggal pada dosis 15 mg/kgBB telah terbukti dapat menyebabkan gagal ginjal akut yang menyebabkan kemampuan ginjal untuk mengekskresikan zat-zat buangan berkurang dan berakibat pada peningkatan kadar BUN dan kreatinin dalam darah.

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan yang dapat mewakili sistem biologis manusia, sehingga membuatnya menjadi hewan yang paling sering digunakan sebagai model dalam penelitian biomedis. Tikus ini termasuk dalam golongan hewan pengerat, perkembangbiakannya sangat cepat, mudah dipelihara dalam jumlah yang besar, dan variasi pada genetiknya juga cukup tinggi. Alasan penggunaan tikus putih dalam penelitian ini adalah karena perawatannya yang mudah. Dan alasan digunakannya tikus jantan adalah karena jika dibandingkan dengan tikus betina, tikus jantan memiliki sistem hormonal yang lebih stabil dan

juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat. Selain itu, tikus yang digunakan dalam penelitian ini memiliki rentang usia sekitar 60-90 hari. Rentang usia ini dipilih untuk memastikan bahwa tikus sudah mencapai fase yang cukup matang untuk diteliti, yaitu fase kematangan seksual (pubertas).

2.5.1 Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Berikut adalah klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*):

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Subfilum	: <i>Vertebrata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> B.



Gambar 2.4 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.5.2 Morfologi dan fisiologi tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Morfologi tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi menjadi bagian kepala dan bagian badan. Tikus ini memiliki ciri-ciri morfologi antara lain saat berumur dua bulan tikus ini memiliki berat mencapai 200-300 gram pada tikus betina dan 300-400 gram pada tikus jantan, memiliki hidung tumpul, berbadan besar, panjangnya sekitar 18-25 cm, memiliki telinga berukuran kecil, memiliki bola mata berwarna merah, dan memiliki kepala dan badan yang lebih pendek dari ekornya sehingga membuatnya mudah untuk dipegang.

Kepala tikus ini memiliki bentuk seperti kerucut dan memiliki kumis yang berfungsi sebagai indra peraba di bagian moncong. Matanya menonjol keluar dan terletak di bagian tepi kepala. Hanya memiliki gigi seri dan gigi geraham, tikus ini tidak memiliki gigi taring. Gigi seri pada tikus ini mengalami pemanjangan dan berfungsi sebagai pengerat benda yang keras.

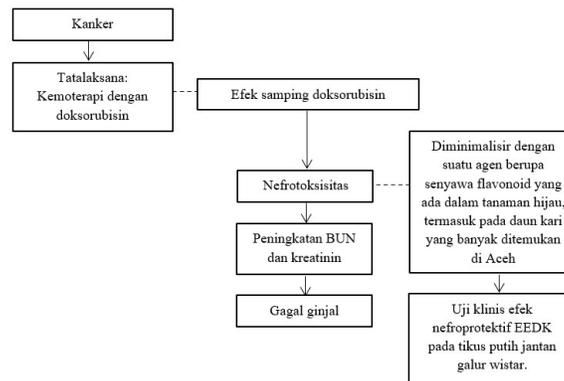
Tabel 2.3 Data Fisiologis Tikus Putih

Rentang umur	2,5-3,5 tahun
Berat badan (<i>adult</i>)	Jantan 450-550 g, betina 250-300 g
Berat badan (<i>birth weight</i>)	5 g
Detak jantung	260-400 <i>beat</i> per menit
Laju pernapasan	75-115 per menit

Suhu tubuh	35,9-37,5°C
Volume darah	50-70 ml/kg
Volume urin	3.3 ml/100 g
Konsumsi makanan harian	10 g/100 gBB
Konsumsi cairan harian	10-12 ml/100 gBB
Kadar BUN tikus jantan	18-28 mg/dl
Kadar kreatinin normal	0,578-1,128 mg/dl

Tikus putih lebih sering terlihat pada tempat-tempat yang memang merupakan habitat alaminya seperti area pertanian, hutan alami maupun buatan, pesisir pantai, dan tempat-tempat yang lembab.

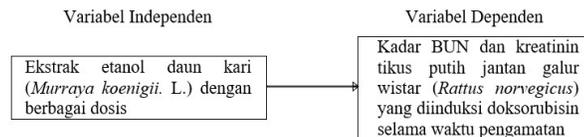
2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep

Kerangka konseptual pada penelitian ini adalah:



Gambar 2.6 Kerangka Konseptual Penelitian

2.8 Hipotesa Penelitian

2.8.1 Hipotesa null (H₀)

1. Tidak terdapat efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) dengan dosis 50 mg/kgBB terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.
2. Tidak terdapat efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) dengan dosis 100 mg/kgBB terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.
3. Tidak terdapat efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) dengan dosis 200 mg/kgBB terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.

2.8.2 Hipotesa alternatif (H_a)

1. Terdapat efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) dengan dosis 50 mg/kgBB terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.
2. Terdapat efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) dengan dosis 100 mg/kgBB terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.
3. Terdapat efek nefroprotektif ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) dengan dosis 200 mg/kgBB terhadap tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *post test only control group design*, menggunakan populasi hewan coba tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*). Penelitian yang akan dilakukan meliputi pengumpulan dan penyiapan bahan tumbuhan, identifikasi sampel, pengolahan sampel, karakterisasi simplisia, pembuatan ekstrak, penyiapan hewan percobaan dan pengujian efek nefroprotektif pada tikus galur wistar.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Definisi operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstrak etanol daun kari (<i>Murraya koenigii</i> (L.) Spreng) dengan berbagai macam dosis	Ekstrak etanol daun kari (<i>Murraya koenigii</i> (L.) Spreng) yang diperoleh dari hasil maserasi, kemudian dipisahkan dengan <i>Rotary Evaporator</i> pada suhu \pm 50°C sampai sebagian besar pelarut menguap dan dilanjutkan dengan proses penguapan di	Timbangan	<i>Self assesment</i> dengan cara menghitung persen dari massa ekstrak kental yang diperoleh dibagi dengan massa simplisia	mg/kgBB	Rasio

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
		atas penangas, sehingga diperoleh ekstrak kental				
2.	Kadar BUN	Kadar urea serum darah tikus putih jantan galur wistar (<i>Rattus novergicus</i>) setelah diberi ekstrak etanol daun kari	Spektrofotometer UV-VIS	Metode urease-GLDH (<i>Glutamate Dehydrogenase</i>) enzymatic UV test	mg/ml	Rasio
3.	Kadar Kreatinin	Kadar kreatinin serum darah tikus putih jantan galur wistar (<i>Rattus novergicus</i>) setelah diberi ekstrak etanol daun kari	Spektrofotometer UV-VIS	Metode Jaffe	mg/ml	Rasio
4.	Doksorubisin	Agen kemoterapi golongan antrasiklik. Antibiotik yang dihasilkan oleh jamur <i>Streptomyces peucetius</i> var. <i>Caesius</i> dan memiliki gugus hidroksi tunggal pada C-14	Sput	Doksorubisin diambil menggunakan spuit, kemudian diinduksikan ke hewan uji coba	mg/kgBB	Rasio

3.7 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

3.7.1 Penyiapan tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Daun kari dikumpulkan dari Jl. Ahmad Kandang, Kec. Muara Dua, Lhokseumawe, Aceh lalu kemudian dibawa untuk dilakukan determinasi herbarium di Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara yang bertujuan untuk mengidentifikasi daun kari berdasarkan ciri-ciri morfologinya

3.7.2 Pembuatan ekstrak daun kari

Sebanyak $\pm 3,5$ kg tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) segar yang sudah dikumpulkan, dibuang bagian-bagian yang tidak diperlukan (sortasi basah), kemudian dicuci dengan air bersih, dikeringkan, dan dilanjutkan dengan sortasi kering. Daun yang sudah bersih dan kering, kemudian dikeringkan dengan menggunakan lemari pengering sampai berat kering

konstan. Setelah kering, daun dihaluskan dengan blender, diayak, ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam wadah plastik tertutup rapat dan disimpan.

Pembuatan ekstrak dimulai dengan memasukkan 300 gram serbuk daun kari yang sudah dibuat ke dalam toples kaca. Setelah itu, dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 75 bagian (2250 ml), dalam keadaan terlindung dari cahaya matahari (toples dilapisi dengan aluminium foil) selama 5x24 jam. Kemudian, menggunakan kertas saring, daun disaring. Filtrat hasil penyaringan kemudian ditambahkan etanol 96% lagi sebanyak 25 bagian (750 ml) dan dibiarkan lagi selama 2x24 jam dalam keadaan terlindung dari cahaya matahari (toples dilapisi dengan aluminium foil). Kemudian, menggunakan kertas saring, daun disaring lagi dan filtrat ditampung dalam erlenmeyer sehingga diperoleh filtrat ekstrak etanol yang bebas dari kotoran. Ekstrak etanol kemudian di evaporasi sampai tidak ditemukan adanya pengembun pelarut pada kondensor menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

3.7.3 Uji fitokimia tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng)

Tujuan dilakukannya uji fitokimia adalah menentukan senyawa fitokimia yang terdapat dalam suatu sampel. Pada tanaman kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) pengujian dilakukan untuk mendeteksi adanya senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid.

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mg ekstrak sampel ditambahkan dengan 0,1 mg serbuk magnesium, 0,4 ml amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan alkohol 95% pada volume yang sama), dan 4 ml alkohol lalu dikocok. Terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan reaksi positif.

2. Uji Alkaloid

Sebanyak 5 mg ekstrak sampel dilarutkan dalam 2 ml asam sulfat (H_2SO_4) 2 N dan kemudian dikocok hingga terbentuk lapisan atas dan lapisan bawah. Larutan kemudian dibagi ke dalam 3 tabung. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer, dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner. Terbentuknya endapan merah hingga jingga pada pereaksi Dragendorff, endapan putih kekuningan pada pereaksi Meyer, dan endapan coklat pada pereaksi Wagner menunjukkan reaksi positif.

3. Uji Tanin

Sebanyak 0,1 g ekstrak sampel ditambahkan 2 ml alkohol 70%. Larutan hasil campuran kemudian diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Adanya warna hijau atau hijau biru menunjukkan reaksi positif.

4. Uji Saponin

Dilakukan dengan melakukan uji busa di dalam air panas. Sebanyak 5 mg ekstrak sampel ditambahkan air yang panas. Adanya busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang saat ditambahkan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan reaksi positif.

5. Uji Triterpenoid/steroid

Sebanyak 5 mg ekstrak sampel dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat (H₂SO₄) pekat. Terbentuknya larutan berwarna merah yang kemudian berubah menjadi biru dan kemudian hijau menunjukkan reaksi positif.

3.7.4 Pembuatan suspensi ekstrak etanol daun kari (EEDK)

Suspensi EEDK dibuat dengan cara melarutkan EEDK dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB ke dalam suspensi CMC-Na 0,5%. Dimana CMC-Na atau Karboksilmetilselulosa Natrium merupakan garam natrium dari polikarboksimetil eter selulosa dan mengandung natrium (Na) yang merupakan serbuk atau granul berwarna putih hingga krem, higroskopis, mudah terdispersi dalam air membentuk larutan koloidal, dan tidak larut dalam etanol, eter, maupun pelarut organik lain.

3.7.5 Penyiapan hewan coba

Tikus diadaptasikan dalam kandang yang telah diberi sekam selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Universitas Sumatera Utara dan diberi perlakuan normal, serta diberi makan dan minum secara teratur.

3.7.6 Pembagian hewan coba

Hewan coba dibagi atas 5 kelompok dan masing-masing terdiri dari 5 hewan percobaan sebagai berikut:

- a. Kelompok I: Kontrol negatif, hewan uji diberikan CMC-Na 0,5% selama 7 hari dan pada hari ke-8 diinduksikan doksorubisin 15mg/kgBB secara intraperitoneal,
- b. Kelompok II: Kontrol positif, hewan uji diberikan vitamin E dengan dosis 100mg/kgBB secara oral selama 7 hari dan pada hari ke-8 diinduksikan doksorubisin 15mg/kgBB secara intraperitoneal,
- c. Kelompok III: Hewan uji diberikan suspensi EEDK dosis 50 mg/kgBB sekali sehari selama 7 hari secara oral dan pada hari ke-8 diinduksikan doksorubisin 15mg/kgBB secara intraperitoneal,
- d. Kelompok IV: Hewan uji diberikan suspensi EEDK dosis 100 mg/kgBB sekali sehari selama 7 hari secara oral dan pada hari ke-8 diinduksikan doksorubisin 15mg/kgBB secara intraperitoneal,

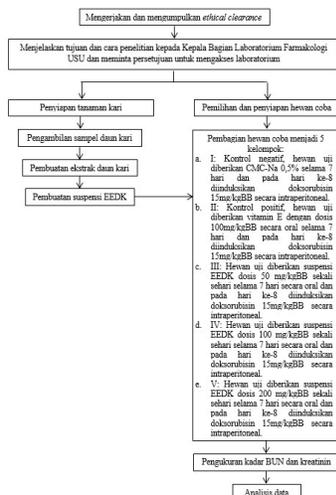
- e. Kelompok V: Hewan uji diberikan suspensi EEDK dosis 200 mg/kgBB sekali sehari selama 7 hari secara oral dan pada hari ke-8 diinduksikan doksorubisin 15mg/kgBB secara intraperitoneal.

3.7.7 Pengukuran kadar BUN dan kreatinin

Pemeriksaan urea serum dilakukan dengan menggunakan metode Urease-GLDH (*Glutamate dehydrogenase*) enzymatic UV test. Lakukan persiapan reagen dengan mencampurkan reagen 1 (yang merupakan campuran dari TRIS, 2-Oxoglutarate, ADP, urease, dan *glutamate dehydrogenase* (GLDH)) dengan reagen 2 (*nicotinamide adenine dinucleotide* + *hydrogen* (NADH)), dengan rasio perbandingan 4 : 1 sehingga didapat reagen baru yang disebut sebagai reagen mono. Reagen mono kemudian disimpan dalam suhu 15-25°C selama minimal 30 menit dan dihindarkan dari sinar matahari. Tabung reaksi diisi dengan serum sebanyak 10 µL kemudian ditambahkan dengan reagen mono sebanyak 1000 µL. Larutan dalam tabung reaksi di vortex beberapa saat untuk kemudian dibaca dengan menggunakan alat spektrofotometer yang telah diatur waktu inkubasi selama 2 menit dan panjang gelombang 340 nm.

Sedangkan untuk pemeriksaan kreatinin, dilakukan dengan metode tes kinetik tanpa deproteinasi berdasarkan metode Jaffe yang prinsip pemeriksaannya adalah kreatinin membentuk kompleks warna jingga-merah dalam larutan pikrat alkali. Lakukan persiapan reagen dengan mencampurkan reagen 1 (*Sodium Hydroxide*) dengan reagen 2 (*Picric Acid*) dengan rasio perbandingan 4 :1 sehingga didapat reagen yang disebut dengan reagen kerja. Tabung reaksi diisi dengan serum sebanyak 50 µL, kemudian ditambahkan reagen kerja sebanyak 1000 µL. Larutan dalam tabung reaksi divortex beberapa saat untuk kemudian dibaca dengan menggunakan alat spektrofotometer yang telah diatur waktu inkubasi selama 2 menit dan panjang gelombang 492 nm.

1.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.2 Hasil Penelitian

4.2.1 Hasil pengukuran kadar BUN dan kreatinin

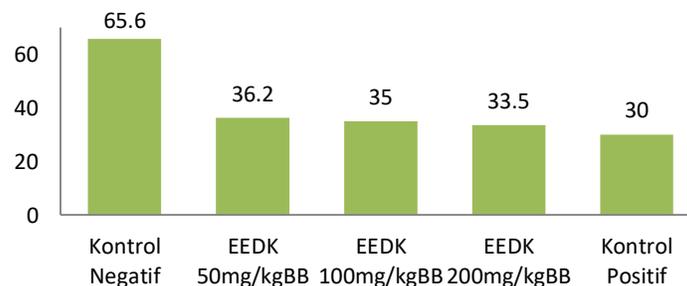
Setelah diberikan perlakuan sesuai dengan pembagian kelompoknya selama 7 hari dan diinduksi doksorubisin di hari ke-8, tikus kemudian dikorbankan dengan menggunakan kloroform untuk kemudian diambil darahnya melalui jantung menggunakan spuit. Lalu, darah tersebut di-*sentrifuge* untuk mendapatkan serum darah tikus. Kemudian, serum darah tersebut disimpan pada suhu kulkas (2 - 10°C) tanpa pengawet dan dibawa ke Laboratorium Dinas Kesehatan Kota Medan menggunakan es untuk dilakukan pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin. Serum darah harus diterima oleh laboratorium maksimal 3 hari setelah pembuatan serum. Hasil pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin tersebut dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut:

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar BUN dan Kreatinin Tikus

Kelompok Uji	Rata - rata Kadar BUN (mg/ml)	Rata - rata Kadar Kreatinin (mg/ml)
Kontrol Positif	30,00	0,480
Kontrol Negatif	65,60	2,084
Kelompok I	36,20	0,924
Kelompok II	35,00	0,812
Kelompok III	33,40	0,638

Sumber: Data Primer, 2021

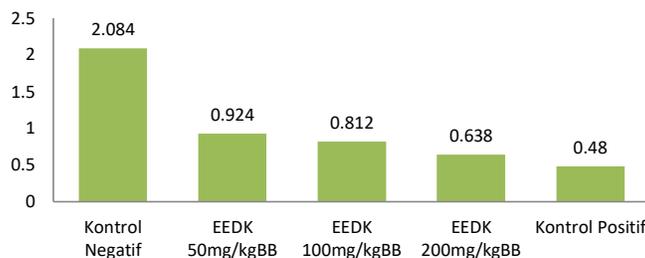
Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata - rata kadar BUN terbesar berada pada kelompok kontrol negatif dengan nilai sebesar 65,60 mg/ml. Sedangkan, rata - rata kadar BUN terkecil berada pada kelompok kontrol positif dengan nilai sebesar 30,00 mg/ml dan diikuti oleh kadar BUN kelompok perlakuan secara berturut-turut dari kelompok III dengan nilai sebesar 33,40 mg/ml, kelompok II dengan nilai sebesar 35,00 mg/ml, dan kelompok I dengan nilai sebesar 36,20 mg/ml. Lebih lanjut, hal ini dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 4.1 Diagram Batang Hasil Rata-rata Kadar BUN Setelah Diberi EEDK dan Diinduksi Doksorubisin

Sumber: Data Primer, 2021

Kreatinin sendiri diketahui memiliki nilai rata-rata kadar terbesar pada kelompok kontrol negatif dengan nilai sebesar 2,084 mg/ml. Sedangkan untuk rata-rata kadar kreatinin terkecil berada pada kelompok kontrol positif dengan nilai sebesar 0,480 mg/ml dan diikuti oleh kadar kreatinin kelompok perlakuan secara berturut-turut dari kelompok III dengan nilai sebesar 0,638 mg/ml, kelompok II dengan nilai sebesar 0,812 mg/ml, dan kelompok I dengan nilai sebesar 0,924 mg/ml. Lebih lanjut, hal ini dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 4.2 Diagram Batang Hasil Rata-rata Kadar Kreatinin Setelah Diberi EEDK dan Diinduksi Doksorubisin

Sumber: Data Primer, 2021

4.2.2 Analisis data

Setelah data diperoleh seluruhnya, maka dilakukan analisis data untuk mendapatkan suatu kesimpulan hasil penelitian. Analisis data dimulai dengan uji normalitas terlebih dahulu yaitu uji *Shapiro-wilk* untuk mengetahui distribusi data tiap kelompok hewan uji.

Tabel 4.2 P-value Uji Normalitas *Shapiro-wilk* Pengukuran Kadar BUN dan kreatinin

Pengukuran	Kelompok				
	Positif	Negatif	I	II	III
BUN	0,595	0,665	0,680	0,967	0,794
Kreatinin	0,169	0,711	0,126	0,344	0,823

Sumber: Data Primer, 2021

Berdasarkan tabel 4.3 didapatkan *p-value* kadar BUN dan kreatinin kelima kelompok $>0,05$, maka data pengukuran kadar BUN dan kreatinin tikus terdistribusi normal. Setelah dinyatakan normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*.

Tabel 4.3 P-value Uji Homogenitas *Levene's Test* Pengukuran Kadar BUN dan kreatinin

Pengukuran	<i>P-value</i>
BUN	0,115
Kreatinin	0,686

Sumber : Data Primer, 2021

Berdasarkan tabel 4.4 didapatkan *p-value* kadar BUN dan kreatinin kelima kelompok $>0,05$, maka data pengukuran kadar BUN dan kreatinin tikus homogen.

Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan uji statistik *One Way Analysis of Variant* (ANOVA) dengan derajat kepercayaan 95% untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok.

Tabel 4.4 P-value Uji ANOVA Pengukuran Kadar BUN dan kreatinin

Pengukuran	P-value
BUN	0,000
Kreatinin	0,000

Sumber : Data Primer, 2021

Berdasarkan tabel 4.5 didapatkan *p-value* kadar BUN dan kreatinin kelima kelompok <0,05, maka data pengukuran kadar BUN dan kreatinin tikus terdapat perbedaan signifikan pada masing-masing kelompok.

Uji Tukey dilakukan untuk melihat kebermaknaan perbedaan data masing-masing kelompok untuk data berdistribusi normal dan variasi homogen.

Tabel 4.5 P-value Uji Tukey Pengukuran Kadar BUN

Kelompok	Negatif	Positif	I	II	III
Negatif	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Positif	-	-	0,115	0,270	0,629
Kelompok I	-	-	-	0,987	0,773
Kelompok II	-	-	-	-	0,962
Kelompok III	-	-	-	-	-

Sumber: Data Primer, 2021

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar BUN antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok I, kelompok II, dan kelompok III dengan nilai $p < 0,05$, sehingga H_0 ditolak.

Dari hasil analisis dengan menggunakan uji Tukey pada tabel 4.6, ditemukan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara kadar BUN kelompok kontrol positif dengan kelompok I, kelompok II, dan kelompok III yang menandakan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna. Tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) juga ditunjukkan pada kadar BUN kelompok I dengan kelompok kontrol positif, kelompok II, dan kelompok III yang juga menandakan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna.

Hasil uji Tukey juga menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara kadar BUN kelompok II dengan kelompok kontrol positif, kelompok I, dan kelompok III yang menandakan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna. Serta tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada kadar BUN kelompok III dengan kelompok kontrol positif, kelompok I, dan kelompok II yang juga menandakan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna.

Tabel 4. 6 P-value Uji Tukey Pengukuran Kadar Kreatinin

Kelompok	Negatif	Positif	I	II	III
Negatif	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
Positif	-	-	0,000*	0,001*	0,191
Kelompok I	-	-	-	0,503	0,004*
Kelompok II	-	-	-	-	0,127
Kelompok III	-	-	-	-	-

Sumber: Data Primer, 2021

Tabel 4.7 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar kreatinin kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok I, kelompok II, dan kelompok III dengan nilai $p < 0,05$, sehingga H_0 ditolak.

Hasil analisis dengan menggunakan uji Tukey pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kadar kreatinin kelompok kontrol positif dengan kelompok I dan kelompok II. Tetapi, tidak terdapat perbedaan signifikan ($p > 0,05$) yang ditunjukkan oleh kadar kreatinin kelompok kontrol positif dengan kelompok III yang menandakan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna.

Dari hasil analisis dengan menggunakan uji Tukey pada tabel 4.7, juga ditemukan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara kadar kreatinin kelompok I dengan kelompok kontrol positif dan kelompok III. Tetapi, tidak terdapat perbedaan signifikan ($p > 0,05$) yang ditunjukkan pada kadar kreatinin kelompok I dengan kelompok II. Hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna.

Hasil uji Tukey juga menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) antara kadar kreatinin kelompok III dengan kelompok kontrol positif dan kelompok II. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan *p-value* yang tidak bermakna. Tetapi, ditemukan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kadar kreatinin kelompok III dengan kelompok I.

4.3 Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian ini, didapatkan bahwa kadar BUN dan kreatinin kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC-Na 0,5% dan diinduksi doksorubisin memiliki kadar BUN dan kreatinin paling tinggi dibandingkan kelompok lain. Hal ini disebabkan doksorubisin dapat memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menimbulkan kerusakan ginjal. ROS nantinya dapat merusak sel-sel tubulus proksimal, endotel, membran basalis, sel mesangial, dan sel viseral glomerulus. Sel-sel yang rusak tersebut akan mengaktifkan makrofag lewat *Toll-Like Receptor 4* (TLR4), sehingga mengekspresikan sitokin-sitokin, salah satunya adalah TGF-beta1. Selanjutnya, ikatan TGF-beta1 pada reseptor membran sel fibroblas interstisial ginjal akan memicu terjadinya interstisial fibrosis yang akan mengakibatkan kerusakan jaringan permanen pada ginjal. Kerusakan ini dapat menurunkan laju filtrasi

glomerulus yang kemudian akan menyebabkan penumpukan BUN dan kreatinin. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Erfan Efendi dkk. (2016) yang menyatakan bahwa penggunaan doksorubisin dapat menyebabkan peningkatan kadar BUN dan kreatinin.

Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif memiliki kadar BUN dan kreatinin yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$). Hal ini disebabkan karena pemberian vitamin E sebagai senyawa pembanding. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Jackie Kang Sing Lung dan Dika Pramita Destiani (2017) tentang uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, dan E, didapatkan bahwa vitamin E memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Aktivitas antioksidan yang dimiliki vitamin E ini yang menyebabkan kadar BUN dan kreatinin kelompok kontrol positif lebih rendah secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Putri Nugraha dkk. (2018) yang menyatakan bahwa vitamin E memiliki kemampuan untuk melindungi ginjal dari radikal bebas dan pemberian vitamin E dengan dosis 100 mg/kgBB memiliki efek protektif pada ginjal.

Pada kelompok perlakuan juga didapatkan nilai kadar BUN dan kreatinin yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan karena dilakukan perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol daun kari. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun kari diduga dapat mencegah atau mengurangi risiko terjadinya nefrotoksitas yang disebabkan oleh penggunaan doksorubisin. Dimana flavonoid akan berperan sebagai antioksidan ekstrasel dengan cara menghambat enzim yang bertanggung jawab untuk memproduksi radikal anion superoksida, seperti protein kinase C dan xantin oksidase. Flavonoid juga dapat menurunkan ROS yang terbentuk dengan tiga mekanisme. Pertama, ROS dapat dihambat oleh flavonoid dengan cara menetralkan ROS melalui proses pemberian elektron pada ROS. Selanjutnya, enzim penghambat ROS, seperti katalase, glutathion peroksidase, dan sodium dismutase, ditingkatkan efektifitasnya oleh flavonoid. Terakhir, flavonoid dapat menghambat enzim siklooksigenase, monooksigenase mikrosom, lipoksigenase, NADH oksidase, dan *glutathione S-transferase* yang terlibat dalam pembentukan ROS.

Selain itu, flavonoid juga dapat mencegah stress oksidatif di ginjal dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan *Glutathione S-transferase* (GSH), meningkatkan pembentukan GSH, dan memerangkap ROS secara langsung dengan cara mendonorkan atom H dari gugus hidroksil (OH) ke senyawa radikal bebas, sehingga senyawa radikal bebas yang terbentuk menjadi tidak reaktif. Dan senyawa flavonoid yang menjadi donor juga dapat berubah menjadi senyawa flavonoid radikal yang akan berikatan dengan senyawa flavonoid

radikal lainnya menjadi bentuk yang tidak reaktif. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Umi Farida (2019) juga disebutkan bahwa senyawa flavonoid memiliki peran dalam menangkap radikal bebas dan berfungsi sebagai antioksidan alami. Senyawa flavonoid juga mampu meningkatkan laju filtrasi glomerulus yang mengakibatkan ekskresi BUN dan kreatinin dalam darah menurun.

Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya penurunan kadar BUN dan kreatinin yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan yang diberikan EEDK berbagai dosis. Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang sudah lebih dahulu dilakukan oleh Nadia Savira (2018) tentang efek nefroprotektif daun kari terhadap induksi gentamisin, yang mengatakan bahwa aktivitas antioksidan yang dimiliki daun kari tersebut dapat membantu menurunkan kadar BUN dan kreatinin ginjal, serta dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa penggunaan EEDK dengan dosis 100 mg/kgBB terbukti efektif dalam menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus yang telah diinduksi gentamisin mendekati kadar BUN dan kreatinin tikus kelompok kontrol positif.

Namun, untuk penelitian ini terdapat perbedaan dosis efektif jika dibandingkan dengan hasil penelitian Nadia Savira (2018) tersebut. Berdasarkan hasil penelitian ini, bisa dilihat bahwa EEDK dosis 100 mg/kgBB belum bisa dikatakan efektif dalam hal mencegah atau mengurangi risiko terjadinya nefrotoksisitas yang diakibatkan penggunaan doksorubisin. Penggunaan EEDK dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB sebenarnya sudah dapat menurunkan kadar BUN sebanding dengan kontrol positif, namun belum dapat menurunkan kadar kreatinin sebanding dengan kontrol positif. Maka, adapun tingkatan efek nefroprotektif yang paling efektif dalam penelitian ini adalah pemberian dosis EEDK sebanyak 200 mg/kgBB.

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Pemberian EEDK dengan dosis 50 mg/kgBB sudah mampu menurunkan kadar BUN, namun belum mampu menurunkan kadar kreatinin tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.
2. Pemberian EEDK dengan dosis 100 mg/kgBB sudah mampu menurunkan kadar BUN, namun belum mampu menurunkan kadar kreatinin tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.

3. Pemberian EEDK dengan dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.
4. Dibandingkan dengan dosis lain, pemberian EEDK dengan dosis 200 mg/kgBB terbukti paling efektif untuk menurunkan kadar BUN dan kreatinin tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi doksorubisin.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan skrining fitokimia secara kuantitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam daun kari.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas EEDK dalam variasi dosis yang lebih banyak dan jangka waktu yang lebih panjang agar diperoleh efek penurunan kadar BUN dan kreatinin yang optimal.
3. Perlu dilakukan penelitian uji klinis sehingga bisa menjadi fitofarmaka agar bisa digunakan untuk pengobatan pada manusia dan diresepkan oleh dokter.

DAFTAR PUSTAKA

- Kemenkes RI. Artikel Hari Kanker Sedunia 2019. 31 Januari [Internet]. 2019.
- Kementerian Kesehatan RI. Laporan Riskesdas 2018. Lap Nas Riskesdas 2018. 2018;118-169.
- Noviyani R, Budiana ING, Tunas IK, Indrayathi A, Niruri R, Suwiyoga K. Effect of Chemotherapy Bleomycin, Vincristin, Mitomycin and Carboplatin by Tumor Mass and Infiltration Parametrial for Cervical Cancer Patients: Case Study in Sanglah General Hospital, Denpasar. *Indones J Clin Pharm*. 2017;6(3):164–70.
- Efendi E. Efek Nefroprotektif Ekstrak Bawang Kucai (*Allium tuberosum*) terhadap kadar BUN dan Kreatinin Tikus Wistar yang Diinduksi Doxorubicin. *NurseLine J*. 2016;1(2):1–7.
- Verdiansah. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. 2016;43(2):148–54.
- Huzeiry A. Uji Sitotoksitas Fraksi Etil Asetat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) terhadap Sel Kanker Serviks (SEL HeLa) dengan Metode MTT Assay. Universitas Muhammadiyah Malang; 2020.
- Huda M. Efek Alopurinol terhadap Kadar Blood Urea Nitrogen dan Kreatinin Serum pada Pasien Penyakit Ginjal Kronis. Universitas Jember; 2019.
- Hermayanti KDY. Gambaran Asupan Kalsium dan Fosfor pada Penderita Gagal Ginjal Kronik Rawat Jalan yang Menjalani Hemodialisa dan Non Hemodialisa di RSUD Badung Mangusada. 2018.
- Savira N. Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) pada Tikus Jantan yang Diinduksi Gentamisin. 2018.
- Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *J Zarah*. 2018;6(1):21–9.

- Sarli AO. Toksisitas Subakut Ekstrak Cacing Tanah (*Pheretima javanica*) terhadap Faal, Morfologi, dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Universitas Jember; 2019.
- Purwaningsih SN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap Mikrobiologi Daging Kambing Kacang. 2017.
- Sukma FF, Sahara D, Ihsan FN, Halimatussakdiah, Wahyuningsih P, Amna U. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun “Temurui” (*Murraya koenigii* (L.) Spreng) Kota Langsa, Aceh. *J Jeumpa*. 2018;5(1):34–9.
- Diana F, Ukhty N, Ajurullah. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Kari (*Murraya koenigii*) untuk Mengobati Benih Ikan Patin Siam (*Pangasianodon hypophthalmus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Akuakultura [Internet]*. 2018;2(2).
- Wardani KA, Rahardjo BT, Tarno H. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam Koja (*Murraya koenigii* L. Spreng.) sebagai Nematisida Nabati pada Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne spp.*). *J HPT*. 2015;3(3):63–71.
- Ul-Husna A. Karakterisasi Skrining Fitokimia Simplisia serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii* L) dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazyl). Universitas Sumatera Utara; 2016.
- Agratama INK. Efek Toksisitas Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap Ginjal Tikus Dilihat dari Kadar Blood Urea Nitrogen (BUN). 2018.
- Anggriantje SP. Pengaruh Latihan Fisik terhadap Hemodinamik Pasien Hemodialisa di RSUD Banyumas. Universitas Muhammadiyah Purwokerto; 2019.
- Sari DRK. Toksisitas Akut Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) Kering terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.) dan Pemanfaatannya sebagai Poster. Universitas Jember; 2017.
- Putri DAR. Pengaruh Serbuk Cacing Tanah (*Pheretima javanica* K.) terhadap Protein Urin, Morfologi Ginjal dan Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus* B.). Universitas Jember; 2018.
- Eroschenko VP. Atlas Histologi diFiore. *J Chem Inf Model*. 2013.
- Farida U. Pengaruh Terapi Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* benth) terhadap Kadar Blood Urea Nitrogen dan Kreatinin pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Glomerulonefritis Akut. Universitas Brawijaya; 2019.
- Failasufi H. Aktivitas Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Doksorubisin terhadap Sel Kanker Mcf-7. Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2017.
- Untari KS. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Bayam Merah (*Amaranthus Tricolor* L.) terhadap Kadar Kreatinin dan Ureum serta Gambaran Histopatologi Ginjal pada Tikus yang Diinduksi Doksorubisin. Universitas Wahid Hasyim Semarang; 2018.
- Istiqomah. Efek Nefroprotektif Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) pada Mencit yang Diinduksi Doksorubisin. Universitas Wahid Hasyim Semarang; 2017.
- Nugraha P, Samsuri S, Berata IK. Pengaruh Pemberian Vitamin E dan Etilin Estradiol terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Indones Med Veterinus*. 2018;7(3):285–94.
- Lung JKS, Destiani DP. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka*. 2018;15(1):53–62.

- Olivia N. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Gambaran Histologis Tubulus Proksimal Ginjal pada Mencit Betina Dewasa (*Mus musculus L*) yang Mendapat Latihan Fisik Maksimal. *J Ris Hesti Medan*. 2016;1(1).
- Hania AM. Efek Pemberian Pengawet Natrium Nitrit terhadap Kadar Kreatinin Darah dan Struktur Gambaran Histopatologi Organ Ginjal pada Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Universitas Islam Negeri Sunan Ampel; 2020.
- Fitria L, Tiraya CM, Andreas Budi DS. Profil Reproduksi Jantan Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar Stadia Muda, Pradewasa, dan Dewasa. *J Biol Papua*. 2015;7(1):29–36.
- Reno Intan P, Khariri. The Use of Laboratory Animals in Supporting The Development of The Medical World. *Pros Semin Nas Sains 2020 [Internet]*. 2020;1(1):141–4.
- Bestari RS, Felina S, Hidayatullah MI, Aisyah R, Nurhayani. Perbedaan Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L .*) dan Daun Ketapang (*Terminalia catappa L .*) dalam Membunuh Larva *Aedes aegypti*. *Proceeding of The URECOL*. 2020;389–96.
- Ridha N. Proses Penelitian, Masalah, Variabel, dan Paradigma Penelitian. *J Hikmah [Internet]*. 2017;14(1):62–70.
- Cahyaningsih E, Y. PESK, Susanthi IM. Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Salam India (*Murraya koenigii L*) terhadap Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinduksi Karagenan 1%. *J Ilm Medicam. J Ilm Medicam*. 2018;4(1):25–31.
- Septiany A. Pengaruh Konsentrasi CMC-Na dalam Emulgel Minyak Sereh (*Cymbopogon citratus*) Terhadap Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antiseptik. Universitas Wahid Hasyim Semarang; 2019.
- Wisudanti DD, Herdiana F, Qodar TS. Diazinon Toxicity to Kidney and Liver of Wistar Male Rats in terms of Biochemical and Histopathological Parameters. *J Agromedicine Med Sci*. 2019;5(2):51.
- Mutmainnah Tuldjannah, Yusak K Tadjio, Joni Tandi. Efek Nefroprotektif Ekstrak Daun Gedi Merah terhadap Kadar Kreatinin/Ureum Tikus Putih Jantan Diinduksi Etilen Glikol. *Farmakol J Farm*. 2018;XV(2):160–7.