

## Uji Toksisitas Akut Dosis Tunggal Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley Menggunakan *Guideline* Uji OECD NO. 423

Syafira Alifia Audiani<sup>1</sup>, Waluyo Rudiyanto<sup>2</sup>, Ety Apriliana<sup>3</sup>, Susianti<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup>Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>3</sup>Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>4</sup>Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

### Abstrak

Ekstrak daun pucuk merah memiliki aktivitas farmakologi diantaranya antioksidan, antibakteri, antijamur dan antivirus. Pengujian toksisitas dilakukan untuk mengukur derajat kerusakan akibat suatu senyawa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis toksik dan pengaruh dosis toksik ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan *guideline* uji OECD No. 423. Ekstrak daun pucuk merah diberikan secara oral sebanyak satu kali dengan dosis yang telah ditentukan (*fixed dose*) berdasarkan *guideline* OECD No.423 yaitu 5, 50, 300, dan 2000 mg/kgBB secara bertahap dengan dosis awal 2000 mg/KgBB. Setelah pemberian dosis, hewan coba diamati selama 24 jam untuk melihat adanya kematian. Jika terdapat 2-3 kematian, dosis selanjutnya diturunkan menjadi 300 mg/KgBB. Namun, apabila pada dosis 2000 mg/KgBB hanya terdapat 0-1 kematian maka dosis akan dinaikkan ke 5000 mg/KgBB. Dalam penelitian ini dilakukan pengamatan histopatologi ginjal pada kelompok kontrol, 2000mg/kgBB, dan 5000mg/kgBB. Dosis toksik ekstrak daun pucuk merah sebesar 5000mg/kgBB yang termasuk dalam zat hampir tidak toksik. Dari hasil pengamatan mikroskopik didapatkan adanya kerusakan berupa pelebaran ruang bowman dan lumen tubulus, akumulasi sel debris, vakuolisasi, kariomegali dan perdarahan. Terdapat pengaruh dosis toksik pemberian ekstrak daun pucuk merah terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih berdasarkan *guideline* uji OECD no.423

Kata kunci: Ekstrak Daun Pucuk Merah, Histopatologi Ginjal, OECD No. 423, Uji Toksisitas Akut

## Single Dose Acute Toxicity Test Of Red Leaf Extract (*Syzygium myrtifolium* Walp) On Kidney Histopathology Of Sprague-Dawley Male White Rats (*Rattus novergicus*) Based On OECD Test Guideline No. 423

### Abstract

Red shoot leaf extract has pharmacological activities including antioxidant, antibacterial, antifungal and antiviral. Toxicity testing is conducted to measure the degree of damage caused by a substance. This study aims to determine toxic dose and the effect of toxic doses ethanol extract of red shoots (*Syzygium myrtifolium* Walp.) on histopathological appearance of white rat's kidney (*Rattus norvegicus*) based on OECD test guideline No. 423. Red shoot leaf extract is given orally once based on OECD guidelines No.423, namely 5, 50, 300 and 2000 mg/kgBW with an initial dose of 2000 mg/KgBW. The experimental animals were observed for 24 hours to see any death. If there are 2-3 deaths, the dose reduced to 300 mg/Kg BW. However, if at dose of 2000 there is only 0-1 death, the dose will be increased to 5000 mg/KgBB. Kidney histopathology was observed in control group, 2000, and 5000 mg/kgBW. Toxic dose of red shoots leaf extract is 5000 mg/kgBW. Results of microscopic observations, there were damages like widening Bowman's space and tubular lumen, accumulation of debris cell, vacuolization, karyomegaly and bleeding. There is an effect of toxic doses red shoot leaf extract on histopathological appearance of white rat's kidney based on the OECD test no.423

Keyword: Red Shoots Leaf Extract, Kidney Histopathology, OECD No. 423, Acute Toxicity Test

Korespondensi: Syafira Alifia Audiani, alamat Jl. Nunyai Gg. Subing 2 No. 12 Rajabasa, HP. 089601562995, e-mail syafiraalifiaa140401@gmail.com

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara agraris yang mempunyai hamparan lahan yang luas, keragaman hayati yang berlimpah, serta iklim

dan kondisi alam yang sangat mendukung.<sup>1</sup> Salah satu tanaman hias yang ada di alam dan perlu dikembangkan yaitu daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp). Pucuk merah

merupakan tanaman hias populer dari famili *Myrtaceae*.<sup>2</sup> Selain digunakan sebagai tanaman estetika, penelitian membuktikan bahwa tanaman pucuk merah ini juga memiliki aktivitas farmakologi seperti aktivitas antioksidan, antijamur, antibakteri, dan antivirus.<sup>3</sup> Total fenolik yang tinggi dan kadar flavonoid dari ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) menunjukkan aktivitas antoksidan. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) juga telah diteliti dan memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.<sup>2</sup>

Suatu obat dari tumbuhan perlu diketahui efek penggunaannya terhadap tubuh. Derajat kerusakan yang diakibatkan suatu senyawa diukur dengan menggunakan uji toksisitas.<sup>4</sup> *OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Guidelines for the Testing of Chemicals* adalah standar yang telah diterima secara internasional untuk menguji keamanan suatu produk. Uji toksisitas akut merupakan teknik pengujian untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa dalam waktu singkat selama 24 jam setelah pemberian dalam dosis tunggal. Salah satu metode pengujian toksisitas akut adalah dengan menggunakan *guideline* OECD No. 423 *Acute Oral Toxicity Class Method*. kelebihan metode ini menggunakan hewan coba yang sedikit, lebih ekonomis, serta waktu perlakuan relatif cepat.<sup>5</sup>

Ginjal adalah organ utama untuk mengekskresikan produk sisa metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh.<sup>6</sup> Ginjal akan berusaha mengeliminasi zat-zat toksik yang beredar dalam tubuh melalui sirkulasi darah. Hal ini mempengaruhi kepekaan ginjal terhadap zat-zat toksik yang masuk ke dalam tubuh.<sup>7</sup>

## Metode

Jenis penelitian ini merupakan *true experimental* dengan menggunakan design penelitian berupa *post test only control group design*. Waktu penelitian dimulai pada bulan September sampai Januari 2023 dengan menggunakan beberapa tempat penelitian seperti *Animal House*, Laboratorium

Histopatologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Laboratorium Nadafri dan Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley, berumur 8-12 minggu dengan berat 200-300 gram yang diperoleh dari Palembang Tikus Center (PTC) Sumatera Selatan. Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan *guideline* Uji OECD No. 423 adalah 18 ekor tikus yang nantinya dibagi menjadi 6 kelompok dengan setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Tikus dikelompokkan menjadi kelompok kontrol yang diberikan CMC-Na 1% dan kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun pucuk merah dengan dosis sebagai berikut : perlakuan 1 (P1) dosis 2000 mg /kgBB, perlakuan 2 (P2) dosis 300 mg/kgBB, perlakuan 3 (P3) dosis 50 mg/kgBB, perlakuan (P4) dosis 5mg/kgBB dan perlakuan 5 (P5) dengan dosis 5000 mg/kgBB. Sebelum dilakukan pemberian, hewan coba dipuasakan selama 6 jam dan setelah diberikan perlakuan hewan uji akan menjalani puasa selama 4 jam.

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp). Sedangkan variabel independen pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi ginjal pada Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague-Dawley.

Berdasarkan *guideline* uji OECD No.423 tahapan awal penelitian adalah kelompok perlakuan pertama hewan coba diberikan ekstrak daun pucuk merah dengan dosis 2000 mg/kgBB secara *single dose*. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara berkala selama 24 jam pertama setelah dilakukan pemberian perlakuan dengan tahapan yaitu: 30 menit kemudian, 4 jam kemudian, 8 jam kemudian, dan 24 jam kemudian. Apabila hanya ditemukan 0-1 ekor hewan coba yang mati, maka berdasarkan OECD *guideline* No.423 uji toksisitas dilanjutkan dengan dosis 5000 mg/KgBB. Namun apabila ditemukan 2-3 ekor hewan coba yang mati, maka dilanjutkan

pengujian pada kelompok dosis 300 mg/kgBB. Hewan coba yang tetap hidup setelah 24 jam akan diamati selama 14 hari untuk melihat adanya kemungkinan *delayed death*. Setelah 14 hari, hewan coba akan diterminasi dan dibuat preparat ginjal. Semua organ ginjal dilakukan pembuatan sediaan histologis untuk diteliti gambaran kerusakannya sesuai dengan kriteria Anggraini (2008) dengan melihat pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 200x.

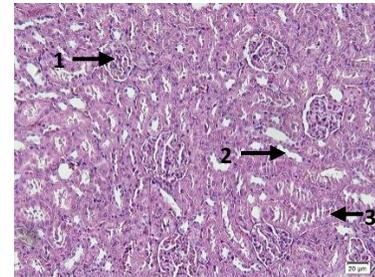
Sediaan preparat ginjal diamati menggunakan skoring Anggraini (2008) dengan keterangan sebagai berikut skor 1 = Tidak terjadi kerusakan jaringan ginjal (pelebaran lumen tubulus, akumulasi sel-sel debris dalam lumen, vakuolisasi lumen tubulus, pelebaran ruang bowman, degenerasi, hiperplasia, kariomegali, dan benda-benda inklusi). Skor 2= bila ditemukan 1-2 kriteria diatas. Skor 3= Bila ditemukan 3-5 kriteria diatas. Dan skor 4= Bila ditemukan 6-8 kriteria diatas

## Hasil

Pada kelompok perlakuan pertama (P1) pemberian dosis 2000 mg/KgBB. Setelah pemberian dosis, tikus mengalami gejala lemas, gelisah dan adanya peningkatan frekuensi napas namun dalam 30 menit pertama gejala tersebut berangsur hilang. Setelah diamati selama 24 jam, tidak ditemukan adanya kematian pada kelompok ini. Berdasarkan *guideline*, dosis dilanjutkan pada kelompok P5 yaitu dosis 5000 mg/KgBB. Pengamatan pada kelompok 5000 mg/KgBB dilakukan selama 24 jam. Tidak lama setelah pemberian dosis, tikus mengalami gejala lemas, gelisah dan peningkatan frekuensi napas. Gejala-gejala tersebut berangsur hilang dalam 30 menit. Setelah 24 jam, tetap tidak ditemukan adanya kematian dan gejala lain yang timbul sehingga kelompok P1 (dosis 2000 mg/KgBB) dan P5 (5000 mg/KgBB) diamati selama 14 hari kemudian diterminasi. Menurut *guideline* OECD, nilai LD50 pada penelitian ini didapatkan dosis 5000 mg/KgBB yang termasuk kedalam kategori hampir tidak toksik berdasarkan kriteria Hodge dan Sterner.

Pada kelompok kontrol, gambaran histopatologi ginjal dalam kondisi normal. Mulai

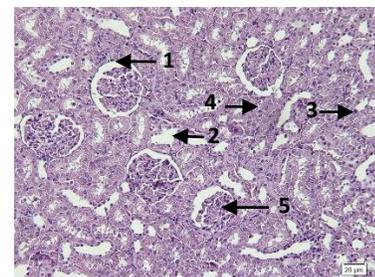
dari glomerulus, tubulus ginjal baik proksimal ataupun distal terlihat normal serta tidak ditemukan adanya kerusakan lainnya.



**Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok Kontrol.**

Keterangan : 1 = Glomerulus, 2 = Tubulus Distal, 3 = Tubulus Proksimal.

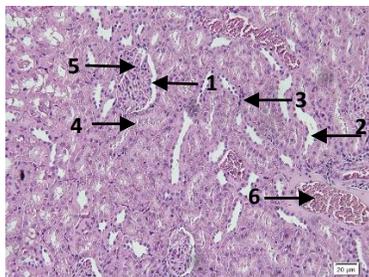
Pada sediaan mikroskopis ginjal kelompok 2000 mg/kgBB ditemukan adanya kerusakan berupa pelebaran ruang kapsul bowman, atrofi glomerulus dan tubulus, pelebaran lumen tubulus yang hampir terjadi di seluruh lapang pandang. Hal ini terlihat pada gambar 2.



**Gambar 2. Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok 2000mg/kgBB.**

Keterangan : 1 =ruang bowman melebar, 2 = pelebaran lumen tubulus, 3 = kariomegali, 4 = sel debris, 5= atrofi glomerulus

Kerusakan pada kelompok dosis 5000 mg/KgBB didapatkan adanya pelebaran ruang kapsul bowman, atrofi glomerulus, atrofi tubulus, pelebaran lumen tubulus, terakumulasinya sel debris, hiperplasia, kariomegali dan juga terdapat adanya perdarahan yang lebih banyak dan hampir terdapat di seluruh lapang pandang yang dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3.** Gambaran Mikroskopis Ginjal Kelompok 5000mg/kgBB.

Keterangan : 1 = pelebaran ruang bowman, 2 = pelebaran lumen tubulus, 3 = kariomegali, 4 = sel debris, 5 = atrofi glomerulus, 6 = perdarahan

Gambaran mikroskopis ginjal di kuantifikasi menggunakan sistem skoring Anggraini (2008). Hasil skoring kerusakan histopatologi ginjal dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Rata-Rata Skoring Kerusakan Ginjal

Kelompok	No.	Rerata skor 5 Lapang Pandang	Rerata
Kontrol	1	2	1,53
	2	1	
	3	1,6	
P1 Dosis 2000 mg/KgBB	1	2	2,33
	2	2,4	
	3	2,6	
P5 Dosis 5000 mg/KgBB	1	3	3,13
	2	3,4	
	3	3,2	

Berdasarkan hasil data pada tabel, dapat diartikan bahwa rerata nilai kerusakan paling tinggi terdapat pada kelompok dosis 5000mg/kgBB dengan rerata nilai kerusakan 3,13 sedangkan nilai kerusakan paling rendah terdapat pada kelompok kontrol dengan rerata nilai kerusakan 1,53.

Hasil uji normalitas Shapiro wilk, ketiga data tersebut memiliki nilai  $p > 0,05$  dapat diartikan data tersebut terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai  $p = 0,073$  ( $p > 0,05$ ) yang menandakan data homogen. Uji dilanjutkan dengan menggunakan uji *One Way* Anova. Hasil dari uji *One Way* Anova menunjukkan nilai  $p = 0,004$  ( $p < 0,05$ ) menandakan adanya perbedaan bermakna. Untuk melihat hubungan rata-rata persentase kerusakan pada

ginjal antara kelompok perlakuan menggunakan uji Post Hoc LSD yang dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Post-Hoc LSD

Kelompok	p-value		
	Kontrol	2000 mg/KgBB	5000 mg/KgBB
Kontrol	-	0,034*	0,001*
2000 mg/KgBB	0,034*	-	0,025*
5000 mg/KgBB	0,001*	0,025*	-

Keterangan: \*Terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ )

Secara statistik, kelompok kontrol memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok dosis 2000 mg/KgBB dan dosis 5000 mg/KgBB begitupun sebaliknya. Kelompok dosis 2000 mg/kgBB juga memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok dosis 5000 mg/KgBB sehingga dapat disimpulkan bahwa berdasarkan uji statistik ketiga kelompok tersebut saling memiliki perbedaan yang bermakna. Dapat dilihat dari gambaran histopatologi bahwa kelompok kontrol terlihat normal sedangkan kelompok dosis 2000 mg/KgBB sudah memiliki 1-2 kriteria kerusakan yang muncul. Pada kelompok 5000 mg/KgBB terdapat kerusakan 3-6 kriteria sehingga dapat disimpulkan semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin tinggi kerusakan yang ditimbulkan pada ginjal.

## Pembahasan

Pada pengamatan histopatologi ginjal, kelompok kontrol yang tidak diberi ekstrak daun pucuk merah dan diberikan CMC-Na 1% didapatkan hasil rerata skoring kerusakan 1,53 dari 3 ginjal tikus dengan 5 lapang pandang berbeda. Didapatkan gambaran histopatologi ginjal normal mulai dari glomerulus yang tidak mengalami atrofi, tidak adanya pelebaran ruang kapsul bowman. Tubulus ginjal baik proksimal ataupun distal yang tidak mengalami pelebaran lumen dan juga tidak ditemukan adanya kerusakan lainnya.

Pada kelompok 2000 mg/KgBB, kerusakan berupa pelebaran ruang kapsul bowman, atrofi glomerulus dan tubulus, pelebaran lumen tubulus yang hampir terjadi di

seluruh lapang pandang. Bila dibandingkan dengan kelompok dosis 5000 mg/KgBB, kerusakan pada kelompok ini tidak separah kelompok dosis 5000 mg/KgBB.

Pelebaran ruang kapsul bowman disebabkan karena penyusutan sel pada sel-sel penyusun glomerulus (atrofi glomerulus) akibat efek nefrotoksik dari ekstrak daun pucuk merah.<sup>8</sup> Rusaknya glomerulus menyebabkan terganggunya aliran darah glomerulus dan tubulus ginjal. Hal ini menyebabkan sel kekurangan nutrisi dan mengalami hipoksia.<sup>9</sup> Sel yang rusak akan membuat glomerulus mengalami atrofi dan terjadi jumlah sel yang menurun akan mengakibatkan jarak glomerulus dan ruang bowman semakin melebar.<sup>10</sup>

Tubulus ginjal memiliki fungsi untuk reabsorpsi dan ekskresi zat toksik. Saat zat toksik berada pada tubulus, sel epitel tubulus mengalami kerusakan bahkan kematian sel akibat kekurangan nutrisi, oksigen, serta kerja tubulus yang meningkat dikarenakan laju filtrasi glomerulus yang menurun. Kematian sel epitel tubulus menyebabkan lumen tubulus semakin melebar. Sisa-sisa kematian sel tersebut akan terakumulasi pada lumen sehingga disebut akumulasi sel debris.<sup>11</sup>

Perdarahan terlihat pertama kali pada kelompok P1. Namun, hal ini terjadi lebih parah pada kelompok P5. Dapat disimpulkan bahwa perdarahan iakan semakin parah seiring peningkatan dosis ekstrak daun pucuk merah. Hal ini terjadi dikarenakan daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa tanin yang dapat menimbulkan perdarahan dan nekrosis. Kariomegali terjadi akibat paparan senyawa toksik. Dalam gambaran histopatologi, kariomegali terlihat dari perubahan nucleus dimana inti selnya membesar.<sup>12</sup> Vakuolisasi terjadi karena adanya timbunan lemak di dalam sitoplasma dan membentuk vakuola-vakuola. Saat zat toksik masuk, metabolisme lemak dalam tubuh akan terganggu yang mengakibatkan penimbunan abnormal trigliserida yang berlebih di sitoplasma. Gambaran vakuolisasi ditunjukkan dengan adanya gambaran ruang kosong.<sup>13</sup>

Berdasarkan *guideline* uji OECD No. 423, didapatkan hasil nilai lethal dose 50 (LD50) dalam penelitian ini adalah dosis 5000 mg/KgBB. tidak terdapat adanya kematian pada kelompok 2000 mg/KgBB maupun kelompok 5000 mg/KgBB. Namun dalam 30 menit pasca pemberian ekstrak daun pucuk merah, masing-masing tikus mengalami gejala toksisitas seperti lemas, gelisah dan adanya peningkatan frekuensi nafas. Gejala pernafasan yang dialami tikus disebabkan oleh kandungan senyawa flavonoid pada pucuk merah yang memberikan efek toksik berupa racun pernafasan. Menurut kriteria Hodge dan Sterner, nilai toksisitas LD50 ekstrak daun pucuk merah termasuk ke dalam kategori hampir tidak toksik.

Kerusakan nefron terjadi dikarenakan adanya beberapa senyawa metabolit sekunder bersifat toksik. Tanin diketahui dapat menimbulkan nekrosis pada ginjal dan pendarahan akibat efek toksik yang masuk ke tubuh. Flavonoid bersifat toksik dikarenakan flavonoid dapat menjadi racun pernafasan dan pencernaan. Turunnya aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan sehingga terjadi kekurangan nutrisi dapat disebabkan oleh kandungan senyawa Saponin.<sup>14</sup>

Berdasarkan uraian diatas, pemberian ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp) dengan menggunakan *guideline* uji OECD No. 423 ini tidak didapatkan adanya kematian hewan uji. Namun, hal ini menyebabkan perubahan histopatologi pada ginjal dan menimbulkan gejala toksisitas seperti lemas, gelisah dan adanya peningkatan frekuensi napas pada hewan uji. Nilai LD50 pada penelitian ini didapatkan dosis 5000 mg/KgBB yang termasuk kedalam kategori hampir tidak toksik.

Daun pucuk merah memiliki banyak manfaat. Dalam penelitian ini, penggunaan dosis ekstrak daun pucuk merah dengan dosis 5000 mg/KgBB tidak menyebabkan kematian namun dosis tersebut menyebabkan perubahan pada ginjal sehingga perlu memperhatikan toksisitasnya. Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan fitofarmaka daun pucuk merah berkaitan dengan toksisitasnya.

## Simpulan

Dari hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa dosis toksik daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) adalah sebesar 5000 mg/kgBB dan terdapat pengaruh dosis toksik pemberian ekstrak etanol dosis tunggal daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley menggunakan *guideline* uji OECD No. 423.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Fajar RI, Wrsiati LP, Suhendra L. Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Teh Hijau Pada Perlakuan Suhu Awal Dan Lama Penyeduhan. *J Rekayasa Dan Manaj Agroindustri*. 2018;6(3):196–202.
2. Haryati NA, Saleh C, Erwin. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Kim Mulawarman*. 2015;13(1):35–40.
3. Ahmed M. Acute Toxicity (Lethal Dose 50 Calculation) of Herbal Drug Somina in Rats and Mice. *Pharmacol Pharm*. 2015;06(03):185–9.
4. Sasmito WA, Wijayanti AD, Fitriana I, Sari PW. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). *J Sain Vet*. 2015;33(2):234–9.
5. OECD. Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. *Oecd Guidel Test Chem* [Internet]. 2004;(December):1–14. Available from: [http://www.oecdilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method\\_9789264071001-en](http://www.oecdilibrary.org/environment/test-no-423-acute-oral-toxicity-acute-toxic-class-method_9789264071001-en)
6. Sherwood L. Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem. IV. Jakarta: EGC; 2011.
7. Suhita NLPR, Sudira IW, Winaya IBO. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Bul Vet Udayana*. 2013;5(1):63–9.
8. Gani JO, Wardhani FM, Tandanu E. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kunyit Putih (*Curcuma zedoaria*) Pada Ginjal Tikus Wistar Jantan. *Maj Kesehat*. 2021;8(4):192–8.
9. Hau EER. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus (*Rattus rattus*) Pada Pemberian Lamtoro Merah (*Acacia villosa*) Adaptasi Dan Tanpa Adaptasi. *Partner*. 2016;21(1):228–40.
10. Rohmah M. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Murbei (*Morus alba* L.) Terhadap Gambaran Histologi Glomerulus dan Tubulus Proksimal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; 2014.
11. Price S, Wilson L. Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit [Internet]. 6th ed. Jakarta: EGC; 2005. Available from: [http://1drv.ms/1EoTry7%5Cnwealt/h/price\\_strategy\\_1.pdf](http://1drv.ms/1EoTry7%5Cnwealt/h/price_strategy_1.pdf)
12. Frazier KS, Seely JC, Hard GC, Betton G, Burnett R, Nakatsuji S, et al. Proliferative and Nonproliferative Lesions of the Rat and Mouse Urinary System. *Toxicol Pathol*. 2012;40(4):14–86.
13. Adleend. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Setelah Pemberian Meloxicam Dosis Toksik. Universitas Hasanuddin. Universitas Hasanuddin; 2015.
14. Siswadi S, Saragih GS. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) Pada Tikus Sprague-Dawley. *Tradit Med J*. 2018;23(2):127–32.
15. Anggraini DR. Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Hati dan Ginjal Mencit Akibat Pemberian Plumbum Asetat. Universitas Sumatera Utara; 2008.