

**EFEK EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH KEBIUL  
(*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) TERHADAP BATU GINJAL  
TIKUS *SPRAGUE DAWLEY* YANG DIINDUKSI  
ETILEN GLIKOL 0,75% DAN AMONIUM KLORIDA 2%**

**THE EFFECT OF KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* L. Roxb) SEED  
ETHANOL EXTRACT AGAINST RENAL CALCULI OF  
SPRAGUE DAWLEY RATS INDUCED BY ETHYLENE GLYCOL  
AND AMMONIUM CHLORIDE**

Tiara Rizki Handayani, Sapto Yuliani

Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta  
Email: tiararizkihandayani@gmail.com

**ABSTRAK**

Penyakit ginjal dapat disebabkan karena ada pembentukan batu yang terbentuk dari kompleks kalsium sehingga dapat mengganggu fungsi ginjal. Biji buah kebiul (*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb) mengandung flavonoid yang dapat mencegah pembentukan endapan batu di ginjal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanol biji buah kebiul pada batu ginjal tikus *Sprague Dawley* (SD) yang diinduksi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%. Sebanyak 30 ekor tikus, dewasa, jantan, dibagi menjadi 6 kelompok yang mendapat perlakuan sebagai berikut: kontrol normal diberi akuades; kontrol sakit, diberi akuades; kontrol positif, diberi obat X dengan dosis 2,7 mL/kg BB, dan kelompok ekstrak diberi ekstrak biji kebiul dengan variasi dosis yaitu 250, 500, dan 1000 mg/kg BB. Induksi batu ginjal dilakukan dengan pemberian etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% 2 jam setelah pemberian ekstrak etanol biji buah kebiul dan obat X selama 10 hari pada semua kelompok, kecuali kelompok normal. Efek terhadap batu ginjal ditentukan berdasarkan jumlah kalsium urin, kadar kreatinin dan ureum serum. Data jumlah kalsium yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney, sedangkan data kreatinin dan ureum serum yang diperoleh dianalisis dengan *one way ANOVA* dilanjutkan dengan uji LSD. Signifikansi hasil dinyatakan dengan  $p < 0,05$ . Jumlah kalsium urin, kadar kreatinin dan ureum serum kelompok ekstrak tidak berbeda bermakna ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol sakit. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji buah kebiul dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg BB tidak memberikan efek pada batu ginjal tikus SD yang diinduksi etilen glikol dan amonium klorida.

**Kata kunci :** biji buah kebiul, batu ginjal, kreatinin, kalsium, ureum

**ABSTRACT**

*Kidney disease may be caused by renal calculi formation leading to renal function disturbance. Kebiul (*Caesalpinia bonduce* (L.) Roxb) seed is one of the plants which can be used for the treatment of renal calculi. The seed of kebiul contains of flavonoid that can excrete calcium from kidney. The aim of the study was to determine the effects of kebiul seed ethanol extract on renal calculi of Sprague Dawley rats induced by ethylene glycol and ammonium chloride. Thirty male adult rats were divided into 6 groups got orally treatments as follow : Normal Control group, was given by aquadest; Renal calculi Control group, was given by aquadest; Positif Control group, was given by X drug, and extract groups, were given by kebiul seed ethanol extract dose 250, 500 and 1000 mg/kg bw, respectively. Administration of ethylene glycol 0.75% and ammonium chloride 2% were 2 hours after administration of kebiul seed extract and X drug. The treatments were carried out each day for 10 days. On day 11 the rats were measured their amount of urine calcium, serum creatinine and ureum levels. The results obtained statistically analyzed by one way ANOVA or Kruskal Wallis tests followed by LSD or Mann Whitney tests with a 0.05 significancy level. The amount of urine calcium, serum creatinine and ureum levels of extract and X drug groups were no significantly different ( $p > 0.05$ ) with the renal calculi group. Base on the results it can be concluded that the kebiul seed ethanol extract dose of 250, 500 and 1000 mg/kg bw could not decrease calcium amount, serum creatinin and ureum levels of renal calculi of Sprague Dawley rat induced by ethilen glicol and ammonium chloride.*

**Keywords :** *Caesalpinia bonduc* (L.) Robx seed., renal calculi, calcium, creatinin and ureum

**PENDAHULUAN**

Batu ginjal adalah partikel padat seperti kerikil yang terdapat di berbagai bagian dari sistem kemih dengan ukuran dapat mencapai 5 cm yang dapat mengganggu fungsi ginjal (Ogi, 2001). Sebanyak 90% dari semua batu ginjal mengandung kalsium, dan sekitar dua pertiga dari semua batu ginjal adalah jenis kalsium oksalat (Sylvia *et al.*, 2005).

Etilen glikol adalah zat yang dapat dimetabolisme di dalam tubuh menghasilkan senyawa oksalat yang dapat mengendap bersama kalsium membentuk kristal kalsium oksalat. Penambahan amonium klorida dapat menginduksi metabolik asidosis sehingga ketika direaksikan dengan etilen glikol akan mempercepat proses terbentuknya kristal oksalat (Wientarsih *et al.*, 2014).

Oleh karena itu, pemberian etilen glikol dan amonium klorida pada hewan uji dapat menjadi model pembentukan batu ginjal pada manusia.

Sampai saat ini penggunaan obat sintesis masih menunjukkan hasil yang belum memuaskan, sehingga obat tradisional masih menjadi pilihan utama dalam pengobatan batu ginjal. Tanaman obat digunakan sebagai pencegahan batu ginjal, karena adanya kandungan flavonoid dan garam-garam mineral yang dapat melarutkan kalsium oksalat (Vogel, 1990). Biji buah kebiul merupakan salah satu bahan tanaman yang mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin (Kusrahman, 2012). Flavonoid merupakan salah satu zat aktif dari tanaman yang mempunyai berbagai khasiat. Beberapa penelitian melaporkan peranan penting senyawa flavonoid dalam meluruhkan batu ginjal. Hal ini disebabkan karena gugus –OH dari flavonoid dapat membentuk kompleks kalsium-flavonoid yang mudah larut dalam air. Aktivitas diuretik dari flavonoid juga dapat membantu pengeluaran batu melalui urin (Nisma, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol biji buah kebiul dalam mencegah pembentukan batu ginjal pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% melalui pengamatan parameter gangguan fungsi ginjal yaitu jumlah kalsium urin, kadar kreatinin dan kadar ureum pada darah.

## METODE PENELITIAN

Bahan uji yang digunakan adalah biji buah kebiul, etanol 70% (General Labora), etilen glikol (Merck), ammonium klorida (Merck), aquades (General Labora), reagen kit untuk uji kreatinin, ureum dan kalsium (Dyasis). Alat yang digunakan adalah kandang metabolit, sonde lambung, gelas ukur, timbangan digital (Ohaus), mikro pipet (Socorex), *rotary evaporator* (Buchi-R-210), alat-alat gelas, eppendorf, spektrofotometer UV-VIS (UV-1800, Shimadzu).

Jalannya Penelitian

### A. Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Buah Kebiul

Biji buah kebiul yang telah dikeringkan diserbuk dengan cara disangrai sampai gosong lalu ditumbuk untuk mendapatkan serbuk. Serbuk biji buah kebiul dimaserasi dengan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam. Setelah disaring, maserat

diuapkan dengan *rotary evaporator* dan di atas penangas air hingga didapatkan ekstrak kental.

#### B. Uji Flavonoid Ekstrak Biji Buah Kebiul

Sebanyak 10 mg ekstrak biji kebiul dilarutkan dalam etanol 70% hingga 5 mL. Larutan diteteskan pada kertas saring, kemudian kertas saring dikeringkan dan diuapkan dengan amoniak. Warna kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid.

#### C. Perlakuan Hewan Uji

Sebanyak 30 ekor tikus *Sprague Dawley*, jantan, umur dewasa, dibagi menjadi 6 kelompok (tiap kelompok 5 ekor). Setelah diadaptasikan selama 1 minggu, tikus mendapatkan perlakuan sebagai berikut: kontrol normal diberi akuades, kelompok kontrol sakit diberi akuades, kontrol positif diberi obat X dengan dosis 2,7 mL/kg BB dan kelompok ekstrak berturut-turut diberi ekstrak etanol biji buah kebiul dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg BB secara per oral. Etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% diberikan 2 jam setelah pemberian ekstrak atau obat dengan dosis 12 mL/200 g BB setiap hari selama 10 hari. Pada hari ke 10 semua tikus dimasukkan ke kandang metabolit untuk penampungan urin selama 24 jam, dan kemudian pada hari ke 11 semua tikus diambil darahnya melalui *sinus orbitalis*.

#### D. Pengukuran Jumlah Kalsium Urin

Pengukuran jumlah kalsium urin dilakukan sesuai prosedur cara kerja reagen kit dengan menggunakan metode fotometri. Prinsip kerjanya adalah senyawa arsenazo III akan membentuk kompleks biru ungu yang intensitasnya proporsional dengan konsentrasi kalsium yang diukur pada panjang gelombang 650 nm. Kadar kalsium urin (mg/dL) yang didapat kemudian dikali dengan volume urin (mL) sehingga didapatkan jumlah (mg) kalsium urin.

#### E. Pengukuran Kadar Kreatinin Serum

Pengukuran kadar kalsium urin dilakukan sesuai prosedur cara kerja reagen kit dengan menggunakan metode "JAFFE". Prinsip kerjanya adalah kreatinin membentuk kompleks warna merah dengan asam pikrat dalam suasana alkali. Perubahan absorbansi pada waktu tertentu proporsional dengan konsentrasi

kreatinin dalam sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 492 nm. Satuan kadar kreatinin adalah mg/dL.

#### F. Pengukuran Kadar Ureum Serum

Pengukuran kadar ureum serum dilakukan sesuai prosedur cara kerja reagen kit dengan metode *enzymatic UV Test* "Urease-GLDH". Prinsip kerjanya adalah urease mengkatalisis proses hidrolisis urea menjadi ammonia dan karbonat. Selanjutnya terjadi reaksi transaminase pada senyawa 2-Oksoglutarat menjadi L-Glutamat, NADH tereduksi menjadi NAD<sup>+</sup> dalam proses katalisis oleh enzim GLDH. Reduksi NADH menjadi NAD<sup>+</sup> menyebabkan penurunan absorbansi pada 340 nm dan kecepatan perubahan absorbansi secara langsung berbanding lurus dengan konsentrasi ureum yang diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 340 nm. Kadar ureum urin dalam satuan mg/dL.

#### G. Analisis Data

Data jumlah kalsium urin dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney sedangkan data kadar kreatinin dan ureum serum dianalisis secara statistik menggunakan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji LSD. Signifikansi ditetapkan jika p kurang dari 0,05.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Uji Flavonoid Ekstrak



**Gambar 1.** Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Buah Kebiul, (a) sebelum diuapkan dengan amonia, (b) setelah diuapkan dengan ammonia, warna kuning membuktikan adanya flavonoid

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol biji buah kebiul menunjukkan bahwa kertas saring yang telah ditetesi ekstrak dan diuapkan dalam

uap amonia terbentuk warna kuning. Hal ini menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada ekstrak, seperti tersaji pada Gambar 1.

#### B. Hasil Analisis Jumlah Kalsium dalam Urin

Hasil pengukuran rata-rata volume dan jumlah kalsium urin dapat dilihat pada Tabel I yang menunjukkan bahwa rata-rata jumlah kalsium urin kelompok kontrol sakit yang hanya diberi etilen glikol dan amonium klorida saja menunjukkan lebih banyak secara bermakna dibandingkan pada tikus kelompok kontrol normal. Pemberian etilen glikol dapat menghasilkan senyawa metabolit oksalat yang akan berikatan dengan kalsium dalam darah membentuk kristal kalsium oksalat ( $\text{CaO}_x$ ) yang dapat terakumulasi di ginjal, menyebabkan ion kalsium tidak dapat direabsorpsi (Brent, 2001; Anggraeni, 2013; Wientarsih *et al.*, 2014). Senyawa amonium klorida berperan sebagai katalisator untuk mempercepat terbentuknya batu ginjal kalsium oksalat. Batu di dalam ginjal dapat luruh bersama dengan urin, sehingga dapat ditemukan jumlah kalsium yang tinggi pada urin (Hardiyatmo, 1988).

**Tabel I.** Volume dan jumlah (mg) kalsium urin (rata-rata  $\pm$  SD) tikus

Grup	Volume urin (mL)	Jumlah Ca (mg)
Kontrol normal	0,6 $\pm$ 0,141	0,028 $\pm$ 0,012 <sup>b</sup>
Kontrol sakit	2,54 $\pm$ 1,187	0,123 $\pm$ 0,056 <sup>a</sup>
Kontrol positif	3,58 $\pm$ 0,943	0,164 $\pm$ 0,047 <sup>a</sup>
Ekstrak dosis 250 mg/kg BB	1,58 $\pm$ 0,783	0,100 $\pm$ 0,048 <sup>a</sup>
Ekstrak dosis 500 mg/kg BB	5,56 $\pm$ 3,454	0,189 $\pm$ 0,081 <sup>a</sup>
Ekstrak dosis 1000 mg/kg BB	2,93 $\pm$ 2,645	0,150 $\pm$ 0,146 <sup>a</sup>

Keterangan : Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol sakit

Berdasarkan Tabel I juga menunjukkan bahwa volume urin kelompok kontrol sakit lebih sedikit apabila dibandingkan dengan volume urin pada kelompok ekstrak dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB dan kelompok kontrol positif. Hal ini dapat disebabkan karena kecepatan filtrasi glomerulus menurun dengan adanya batu ginjal yang mengganggu aliran urin (Prabosh dan Revikumar, 2012).

Berdasarkan data hasil pengukuran volume urin tersebut membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol biji buah kebiul maupun obat X memiliki

aktivitas sebagai diuretik sehingga menyebabkan volume urin yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan kontrol sakit. Namun demikian, pemberian ekstrak dosis 250, 500, 1000 mg/kg BB dan obat X menunjukkan jumlah kalsium di dalam urin yang berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol sakit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dan obat X belum mampu untuk menurunkan jumlah kalsium di dalam urin secara bermakna. Apabila ekstrak uji mampu mencegah pembentukan batu ginjal maka batu kalsium tidak akan terbentuk sehingga ion kalsium dapat direabsorpsi, sehingga jumlah kalsium di urin lebih sedikit (Wijaya, 2014).

### C. Hasil Analisis Kadar Kreatinin Serum

Hasil pemeriksaan kadar kreatinin serum tikus pada penelitian ini disajikan pada Tabel II. Berdasarkan hasil pengukuran kadar kreatinin serum menunjukkan bahwa kadar kreatinin serum tikus kelompok kontrol sakit lebih kecil dibandingkan dengan kontrol normal ( $p < 0,05$ ). Kreatinin sering dipakai untuk menilai fungsi ginjal. Kreatinin adalah hasil metabolisme keratin fosfat yang terjadi di dalam otot secara fisiologi. Kreatinin diekskresikan seluruhnya melalui urin dan kadarnya sangat dipengaruhi oleh laju filtrasi glomerulus (Madyastuti, 2015). Substansi nitrogen (seperti kreatinin, asam urat, dan nitrogen urea) yang merupakan produk buangan utama tubuh, dengan adanya batu ginjal yang menghalangi ekskresi urin sehingga menyebabkan produk buangan tersebut terakumulasi di darah (Prabosh dan Revikumar, 2012).

**Tabel II.** Kadar kreatinin serum (rata-rata  $\pm$  SD) tikus pada kelompok uji

Grup	Kreatinin (mg/dL)
Normal	0,38 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
Kontrol Sakit	0,29 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	0,3 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
EEBK 250 mg/kg BB	0,37 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
EEBK 500 mg/kg BB	0,21 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
EEBK 1000 mg/kg BB	0,33 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>

Keterangan : EEBK: ekstrak etanol biji kebiul. Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol sakit.

Pada Tabel II menunjukkan rata-rata kadar kreatinin kelompok kontrol normal, kontrol positif, ekstrak dosis 250 mg/kg BB dan dosis 1000 mg/kg BB lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol sakit. Hal ini berarti pemberian etilen glikol dan amonium klorida tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar kreatinin serum. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kadar kreatinin adalah jenis kelamin, kondisi kelaparan, dan ukuran jaringan otot. Penggunaan tikus yang memiliki umur beragam juga mempengaruhi kadar kreatinin darah. Semakin bertambahnya umur jumlah glomerulus yang rusak juga semakin bertambah (Wientarsih *et al.*, 2012). Selain itu, pada fungsi ginjal yang normal dapat terjadi peningkatan kadar kreatinin serum bila terjadi kerusakan otot yang hebat (Solicha, 2014).

#### D. Hasil Analisis Kadar Ureum Serum

Hasil pemeriksaan kadar ureum serum hewan uji pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel III.

**Tabel III.** Kadar ureum serum (rata-rata + SD) tikus pada kelompok uji

Grup	Ureum (mg/dL)
Normal	36,5 ± 5,45 <sup>a</sup>
<i>Renal calculi</i>	54,9 ± 22,18 <sup>a</sup>
Kontrol positif	45,55 ± 34,14 <sup>a</sup>
EEBK 250 mg/kg BB	45,97 ± 15,93 <sup>a</sup>
EEBK 500 mg/kg BB	31,8 ± 4,20 <sup>a</sup>
EEBK 1000 mg/kg BB	60,37 ± 21,94 <sup>a</sup>

Keterangan : EEBK: ekstrak etanol biji kenul. Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol sakit.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar ureum serum menunjukkan bahwa rata-rata kadar ureum serum tikus kelompok kontrol sakit lebih besar dibandingkan dengan kontrol normal meskipun tidak secara signifikan. Ureum dalam darah atau disebut urea nitrogen darah (*Blood urea Nitrogen/ BUN*) merupakan hasil metabolisme protein normal. Meningkatnya ureum dalam darah merupakan indikasi penurunan fungsi ginjal (Madyastuti, 2015).

Tabel III menunjukkan bahwa pemberian ekstrak berbagai dosis dan obat X tidak mempengaruhi kadar ureum serum, karena hasil uji statistik menunjukkan



kadarnya tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol sakit ( $p > 0,05$ ). Hal ini kemungkinan disebabkan karena variasi kadar ureum serum yang besar dikarenakan selama perlakuan tikus tidak menggunakan kandang individual sehingga masing-masing tikus uji mendapat asupan protein dalam pakan yang tidak seragam.

## KESIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol biji buah kebiul dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg BB belum mampu menurunkan jumlah kalsium urin dan kreatinin serum. Penelitian ini juga belum dapat menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji buah kebiul dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg BB mampu menurunkan kadar ureum serum pada batu ginjal tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%, karena kadar ureum serum kelompok kontrol sakit tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa tahun 2016.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni, S., 2013, Uji Aktivitas Penghambatan Pembentukan Batu Ginjal (Anti Nefrolitiasis) Ekstrak Etanol dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) pada Tikus Jantan, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.
- Brent, J., 2001, Current management of ethylene glycol poisoning, *Drugs*, **61** (7): 979-988.
- Hardiyatmo, G., 1988, Pengaruh Ekstrak Air dan Ekstrak Alkohol Daun *Sonchus oleraceus* L. terhadap Volume Urin Tikus *In Vivo* dan Pelarutan Batu Ginjal *In Vitro*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Kusrahman, A., 2012, Isolasi Karakterisasi Senyawa Aktif dan Uji Farmaka Ekstrak Biji Kebiul pada Mencit (*Mus musculus*) serta Penerapannya dalam Pembelajaran Kimia di SMAN 1 Bengkulu Selatan, *Tesis*, Program

Pascasarjana Pendidikan IPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan,  
Universitas Bengkulu, Bengkulu.

Madyastuti, R., Widodo, S., Wientarsih, I., dan Harlina, E., 2015, Infusum Daun Alpukat sebagai Inhibitor Kristalisasi Kalium Oksalat pada Ginjal, *Jurnal Veteriner*, 16(4): 525-532.

Nisma, F., 2011, Pengaruh Penambahan Ekstrak Etanol 70% Buah Anggur Biru (*Vitis vinifera* L.) terhadap Kelarutan Kalsium Batu Ginjal, *Jurnal Penelitian*, Jurusan Farmasi FMIPA Uhamka, Jakarta.

Ogi, 2001, Batu Ginjal, <http://www.metrobanjar.indonesia.com>

Prabosh G.R. and Revikumar K.G., 2012, Effect of MUSA Tablet on Ethylene Glycol-Induced Urolithiasis in Rats, *International Journal of Reseach in Pharmacuetical and Biomedical Sciences*, 3 (3): 2229-3701.

Solicha, U., 2014, Pengaruh Jus Kedondong (*Spondias pinnata* L.) terhadap Kadar Kreatinin pada Sukarelawan Sehat, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

Sylvia Anderson., Price, Lorraine McCarty Wilson., 2005, *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*, diterjemahkan oleh Brahm U.; editor edisi bahasa Indonesia, Huriawati Hartanto; Edisi Ke-6., EGC, Jakarta.

Vogel. R., 1990, *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semi Makro*, diterjemahkan oleh Setiano, L., Hadyana Pujaatmaka, PT. Kalman Media Pustaka. Jakarta.

Wientarsih, I., Harlina, E., Madyastuti, R.P., Trisnaning, I, H, U., 2014, Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat terhadap Zat Nefrotoksik Ginjal Tikus. *Veteriner*. 15 (2):246-251.

Wientarsih, I., Madyastuti, R., Febran, B, P., Firnanda, D., 2012, Gambaran Serum Ureum dan Kreatinin pada Tikus Putih yang Diberi Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat, *Veteriner* 13 (1):57-62.

Wijaya, C., 2014, Efek Sediaan Herbal Kalkugama terhadap Kalsium Urin dan Histopatologi Ginjal Tikus Urolitiasis karena Induksi Etilen Glikol, *Skripsi*, Fakultas farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.