

AKTIVITAS ANTINEFROLITIASIS EKSTRAK ETANOL DAUN SAMBUNG NYAWA [*Gynura procumbens* (LOUR.) MERR.] PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)

Antinephrolithiasis Activity of Ethanol Extract of Sambung Nyawa Leaves
[*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.] on Male White Rats (*Rattus norvegicus*)

Rida Evalina Tarigan^{1*}, Tri Mayanti¹, Muhammad Andry¹, Chemayanti Surbakti²

¹Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan
Helvetia, Medan, 20124

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan,
Indonesia, 20155

*Email: ridaevalinatarigan@helvetia.ac.id

ABSTRACT

Gynura procumbens is a diuretic plant that has been used traditionally to cure kidney stones. In order to determine the calcium levels in the rats' kidneys, the antinephrolithiasis activity of male white rats was tested in this study. This research method was carried out experimentally in a laboratory which included sampling, plant identification, making simplicia, making ethanol extract of sambung nyawa leaves, characteristics of simplicia, phytochemical screening, administering animal test preparations, then the data was analyzed using the Anova test. Oral administration of succulent leaf extract is done at three different doses: 50, 100, and 200 mg/kg bw. A positive control is provided with Batugin elixir, which is 0.54 mL/125 g BW and induced at a volume of 7.5 mL/125 g BW/day using ethylene glycol 0.75% and ammonium chloride 2%. The study's findings demonstrated that, with a kidney stone inhibitor percentage of 31.71%, the ethanol extract of Sambung Nyawa leaves at a dose of 200 mg/kg BW was more successful in preventing the formation of kidney stones than doses of 50 mg/kg BW and 100 mg/kg BW. This proves that the ethanol extract from Sambung Nyawa leaves can be an alternative way to prevent kidney stones. The conclusion is that the ethanol extract of *Gynura procumbens* L. leaves has antinephrolithiasis activity in male white rats, especially at a dose of 200 mg/kg BW. It also reduced calcium oxalate levels in mice induced by ethylene glycol and ammonium chloride.

Keywords: Antinephrolithiasis Activity Test, Ethanol Extract, Sambung Nyawa Leaves, Male White Rat

ABSTRAK

Gynura procumbens merupakan tanaman dengan sifat diuretik yang telah digunakan secara tradisional untuk mengobati batu ginjal. Kadar kalsium pada penelitian ini diperiksa untuk melihat kondisi organ ginjal tikus, aktivitas anti-nefrolitiasis tikus putih jantan diuji dalam penelitian ini. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental di laboratorium. Prosedur yang dilakukan dalam metodologi penelitian ini adalah identifikasi tanaman, pembuatan simplisia, ekstrak etanol daun simplisia, ciri-ciri simplisia, skrining fitokimia, dan pemberian sediaan uji hewan. Uji Anova kemudian digunakan untuk menilai data. Pemberian ekstrak daun sukulen secara oral dilakukan dengan tiga dosis berbeda, yaitu: 50, 100, dan 200 mg/kg bb. Kontrol positif yang digunakan adalah Batugin Elixir 0,54 mL/125 g BB dan diinduksi dengan volume 7,5 mL/125 g bb/hari menggunakan etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2%. Sepuluh

hari induksi dan sepuluh hari persiapan ujian didedikasikan untuk pengobatan. Ginjal tikus digunakan dalam pengobatan, dan pengukuran fitur ginjal, rasio berat, dan kadar kalsium dilakukan. Ciri-ciri ginjal meliputi ukuran, bentuk, dan warna. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan persentase penghambat batu ginjal sebesar 31,71%, ekstrak etanol daun sambung nyawa dosis 200 mg/kg bb lebih berhasil mencegah pembentukan batu ginjal dibandingkan dosis 50 dan 100 mg/kg bb. Hal ini menunjukkan bahwa pencegahan batu ginjal dapat dilakukan dengan alternatif penggunaan ekstrak etanol daun sambung nyawa. Penelitian menyimpulkan bahwa, khususnya pada konsentrasi 200 mg/kg bb, ekstrak etanol daun *Gynura procumbens* L. menunjukkan efek antinefrolitiasis pada tikus putih jantan. Pada tikus, hal ini juga menurunkan jumlah kalsium oksalat yang dihasilkan oleh amonium klorida dan etilen glikol.

Keywords: Daun Sambung Nyawa, Ekstrak Etanol, Tikus Putih Jantan, Uji Aktivitas Antinefrolitiasis

PENDAHULUAN

Karena secara alami mengandung zat bioaktif yang dapat mengobati berbagai macam penyakit, tanaman obat dapat dimanfaatkan untuk keperluan pengobatan [1]–[3]. Tumbuhan obat didefinisikan memiliki dua kegunaan utama, yaitu sebagai obat pencegahan dan sebagai agen terapeutik [4]. Telah dibuktikan bahwa komponen kimia aktif yang ditemukan dalam tanaman obat dapat menghentikan timbulnya banyak penyakit [5], [6]. Ketika suatu penyakit muncul, kebutuhan akan obat-obatan farmakologis dapat dikurangi karena bersifat preventif. Kandungan kimia tanaman obat mungkin berinteraksi secara sinergis atau simultan selama terapi, sehingga meningkatkan, menangkal, atau menetralkan efek samping [7], [8].

Salah satu tanaman obat yang berkembang saat ini adalah *Gynura procumbens* (Lour.) Merr atau biasa dikenal dengan sebutan daun sambung nyawa. Daun Sambung nyawa digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit, antara lain kanker, hipertensi, diabetes melitus, demam, ruam, penyakit ginjal, migrain, dan sembelit [9], [10]. Daun Sambung nyawa dikatakan memiliki sifat anti virus herpes simpleks, antihiperlipidemia, antiinflamasi, analgesik, dan menginduksi kembali hipertensi darah berdasarkan studi farmakologi [11].

Tumbuhan daun sambung nyawa yang memanjang dan berbentuk bulat ini digunakan sebagai makanan dan obat-obatan, dan juga dapat digunakan untuk membuat teh dan sayuran segar. *Gynura procumbens* memiliki manfaat terapeutik untuk penyakit ginjal, diare, infeksi esofagus, dan pencegahan pendarahan, edema, dan patah tulang [12], [13]. Zat aktif yang terdapat pada daun biota laut (*Gynura procumbens* (Lour) Merr) antara lain tanin, saponin, polifenol (asam fenolik), alkaloid, minyak atsiri, flavonoid, asam p-hidroksi benzoat, asam klorogenat, dan steroid (triterpenoid) [14], [15].

Berdasarkan penelitian Oktovi dkk (2013). yang meneliti pengaruh fraksi air dan etil asetat ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) terhadap kelarutan batu ginjal secara in vitro, terdapat pengaruh nyata terhadap kalsium ginjal [16]. Kelarutan batu, dengan konsentrasi fraksi air sebesar 133,238 ppm dan konsentrasi fraksi etil asetat sebesar 62,5491 ppm [17]. Salah satu organ dalam tubuh yang krusial adalah ginjal. Organ ini mengontrol pengeluaran produk limbah, kandungan garam darah, keseimbangan asam basa, dan keseimbangan air. Zat mana yang harus dikeluarkan dari tubuh dan mana yang harus disimpan adalah keputusan yang dibuat oleh ginjal. Cairan yang diserap kembali membentuk sebagian dari apa yang masih ada dalam aliran darah, sedangkan produk limbah berakhir di urin. Urin dikumpulkan di dalam mangkuk ginjal saat mengalir melalui arteri kecil menuju pusat ginjal, lalu mengalir ke kandung kemih hingga keluar dari tubuh [18].

Batu ginjal, glomerulonefritis, dan gagal ginjal merupakan contoh penyakit ginjal. Hal ini diperkirakan 13% pria dewasa dan 7% wanita dewasa diyakini menderita batu ginjal [17]. Mayoritas pasien—empat dari lima—adalah laki-laki, dan usia mereka berkisar antara dekade ketiga hingga dekade keempat. Dengan rasio laki-laki dan perempuan 4:1, kondisi ini mempengaruhi sekitar 4% dari total populasi dan berhubungan dengan rasa sakit dan morbiditas yang signifikan [19].

Batu saluran kemih, atau batu ginjal, adalah benjolan keras seperti batu yang tumbuh di sepanjang saluran kemih dan dapat menyebabkan infeksi, rasa tidak nyaman, pendarahan, atau penyumbatan [20]. Batu ginjal muncul akibat upaya ginjal membuang kelebihan kalsium dari tubuh melalui buang air kecil. Di sisi lain, ginjal secara bertahap akan kehilangan kemampuannya dalam menyaring kalsium, yang akan menyebabkan kalsium menumpuk dan mengendap secara perlahan, sehingga terjadi pembentukan massa padat yang dikenal sebagai batu ginjal [21]. Masih belum banyaknya data aktivitas farmakologi antinefrolitiasis dari ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) membuat peneliti tertarik untuk menguji aktivitas farmakologi antinefrolitiasis dari ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) terhadap hewan tikus jantan putih dengan metode pengukuran parameter kadar kalsium dan berat ginjal setelah diberikan perlakuan.

Berdasarkan uraian diatas peneliti merasa perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) untuk uji aktivitas antinefrolitiasis terhadap hewan uji tikus putih jantan dengan parameter kadar kalsium dalam ginjal tikus. Kebaruan penelitian ini terletak pada penggunaan ekstrak etanol daun sambung nyawa sebagai potensi obat antinefrolitiasis. Selain itu, penelitian ini juga dapat memberikan pemahaman lebih lanjut mengenai mekanisme kerja ekstrak etanol daun sambung nyawa dalam menghambat pembentukan batu ginjal pada tikus putih jantan. Tujuan penelitian ini adalah untuk uji aktivitas antinefrolitiasis terhadap hewan uji tikus putih jantan dengan parameter kadar kalsium dalam ginjal tikus.

METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental laboratorium, dengan persiapan bahan, persiapan hewan coba, dan pengujian daya hambat batu ginjal pada tikus putih sebagai tahapan penelitian. Selama lebih kurang 2 bulan dari bulan Agustus sampai bulan September tahun 2022. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Bahan penelitian ini adalah daun sambung nyawa yang didapatkan dari kebun halaman di Kotapinang Labuhan Batu Selatan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Seperangkat peralatan bedah tikus, *hot plate*, blender, oven, kertas saring, kapas, dan peralatan gelas (pipet tetes, mikrotube, corong, gelas kimia, tabung reaksi, tongkat pengaduk, spatula, piring tetes, dan cangkir porselen). Ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L. Merr) digunakan sebagai sediaan uji. Air suling, etanol, etilen glikol (0,75%), amonium klorida (2%), obat mujarab batugin, Na-CMC (0,5%), dan eter merupakan bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini. Reagen kimia: hidrogen peroksida, kloroform, bubuk magnesium, magnesium bubuk, dan dragendorf.

Prosedur Penelitian

Lima kilogram daun *Gynura procumbens* diambil sampelnya dari Perkebunan Sisumut di Kota Pinang. Di Medanense Herbarium (MEDA) Universitas Sumatera Utara, ditentukan tanaman daun mana yang vital. Sampel daun sambung nyawa seberat 5 kg

dibersihkan secara menyeluruh dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Kemudian ditiriskan, dipotong, dan dikeringkan dalam lemari pengering hingga tidak mudah pecah lagi. Sampel kemudian ditimbang kembali untuk mengetahui berat keringnya. Selanjutnya serbuk simplisia dicampur dan dilewatkan melalui saringan 40 *grit*. Berat bubuk kemudian ditentukan dan dipindahkan ke wadah plastik dan jauhkan dari sinar matahari langsung di tempat yang kering. Pembuatan ekstrak daun sambung nyawa dilakukan menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE). Bubuk simplisia ditimbang sebanyak 50 g lalu ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan (1:6) yaitu sebanyak 300 mL. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan microwave dengan daya 800 watt dengan suhu tidak lebih dari 80°C selama 6 menit. Sampel yang telah diekstraksi kemudian disaring menggunakan kertas Whatman no. 1 sampai diperoleh filtrat daun sambung nyawa dengan dilakukan pengulangan sebanyak 10 kali, lalu filtrat dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan tekanan 100 mbar dengan suhu 40°C dengan putaran 100 rpm sampai diperoleh ekstrak kental.

Karakterisasi Simplisia

Analisis makroskopis simplisia daun simplisia bubuk (*Gynura procumbens*) dengan mengukur jumlah air, larutan etanol, sari larut air, abu total, dan abu tidak larut asam.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dari serbuk simplisia meliputi pemeriksaan kandungan zat aktif senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, triterpenoid/steroid.

Hewan Percobaan

Tiga puluh tikus putih jantan berumur 2 bulan dengan berat minimal 120 g menjadi subjek percobaan dalam penelitian ini. Mereka dibagi menjadi enam kelompok. Tikus diadaptasikan selama 7-14 hari sebelum pengujian. Jumlah minimal sampel tikus putih jantan pada penelitian ini didapat dari rumus Federer[22]. Berdasarkan rumus tersebut didapatkan jumlah minimal sampel hewan coba setiap kelompoknya adalah 4 ekor tikus, sehingga total keseluruhan minimal sampel hewan coba yang dibutuhkan sejumlah 24 ekor tikus.

Pembuatan Suspensi Sediaan Uji

Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5%

Sepuluh mililiter air suling panas ditambahkan ke dalam mortar bersama dengan lima gram Na-CMC. Setelah digiling selama 15 menit hingga diperoleh massa bening, encerkan dengan air suling, homogenkan, dan pindahkan ke dalam labu takar 100 mL, isi sisa wadah dengan air suling.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa

Tiga variasi dosis yang berbeda, yaitu: 50, 100, dan 200 mg/kg bb akan digunakan dalam pengujian. Masing-masing mortar diisi ekstrak etanol daun sambung nyawa sebanyak 50, 100, dan 200 mg. Secara bertahap ditambahkan suspensi Na-CMC 0,5% b/v, dan campuran digerus hingga 10 mL homogen. Dosis pemberian, konsentrasi ekstrak dan volume pemberian ekstrak etanol daun sambung nyawa dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Berat Badan, Dosis Pemberian, Konsentrasi Ekstrak dan Volume Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa

Berat Badan	Dosis Pemberian	Konsentrasi Ekstrak	Volume Pemberian
Ekstrak etanol daun sambung nyawa Dosis 50 mg/kg bb			
122 gr	$(122 \times 50 \text{ mg}) / 1000 = 6,1 \text{ mg}$	$(50 \text{ mg}) / (10 \text{ ml}) = 5 \text{ ml}$	$(6,1) / (5) = 1,2 \text{ ml}$
Ekstrak etanol daun sambung nyawa Dosis 100 mg/kg bb			
125 gr	$(125 \times 100 \text{ mg}) / 1000 = 12,5 \text{ mg}$	$(100 \text{ mg}) / (10 \text{ ml}) = 10 \text{ ml}$	$(12,5) / (10) = 1,25 \text{ ml}$
Ekstrak etanol daun sambung nyawa Dosis 200 mg/kg bb			
125gr	$(125 \times 200 \text{ mg}) / 1000 = 25 \text{ mg}$	$(200 \text{ mg}) / (10 \text{ ml}) = 20 \text{ ml}$	$(25) / (20) = 1,25 \text{ ml}$

Pengelompokan Hewan Uji dan Pemberian Sediaan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih jantan yang sehat sebanyak 24 ekor yang dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Pembagian kelompok hewan uji sebagai berikut :

- Kelompok I : Normal, hanya diberikan makan dan minum.
- Kelompok II : Negatif, diberikan suspensi Na-CMC 0,5% dan diinduksi etilen glikol dengan amonium klorida.
- Kelompok III : Positif, diberikan batugin elixir dan diinduksi etilen glikol dengan amonium klorida.
- Kelompok IV : Perlakuan, diberikan EEDSN dengan dosis 50 mg/kg bb dan diinduksi etilen glikol dengan amonium klorida.
- Kelompok V : Perlakuan, diberikan EEDSN dengan dosis 100 mg/kg bb dan diinduksi etilen glikol dengan amonium klorida.
- Kelompok VI : Perlakuan, diberikan EEDSN dengan dosis 200 mg/kg bb dan diinduksi etilen glikol dengan amonium klorida.

Induksi batu ginjal dengan pemberian amonium klorida 2% dan etilen glikol 0,75% per oral sebanyak 1% berat badan tikus. Tikus dipelihara di kandang hewan percobaan Universitas Sumatera Utara pada Jurusan Farmakologi. Tikus diadaptasikan selama tujuh hari sebelum perlakuan.

Enam kelompok hewan percobaan dibuat berdasarkan berat badan yang sama. Kelompok I adalah kelompok kontrol; mereka hanya diberi makanan dan cairan yang cukup dan tidak diberi obat apapun yang dapat memicu produksi batu ginjal. Kelompok II berperan sebagai kontrol negatif dan hanya diberikan obat pemicu batu ginjal dan suspensi Na CMC 0,5%. Selama sepuluh hari, kelompok III diberikan induksi batu ginjal dan obat batugin sebagai kontrol positif. Sebagai kelompok uji, kelompok IV, V, dan VI mendapat obat penginduksi batu ginjal selain ekstrak etanol daun sambung nyawa dosis oral (masing-masing 50, 100, dan 200 mg/kg bb).

Larutan ekstrak daun sambung nyawa (1 mL/200 g bb) diberikan secara oral kepada tikus. Sepuluh hari dihabiskan untuk merawat hewan sebelum pengujian, dan sepuluh hari lainnya dikhususkan untuk proses induksi. Pada hari ke-21, tikus percobaan dibunuh dengan kloroform, perut mereka kemudian dibuka, kedua ginjal diangkat, dan kadar kalsium ginjal dicatat. Sebelum dianalisis, ginjal tikus diperiksa bentuk, warna, berat, dan perbandingannya. Selain itu, berat badan diukur untuk membandingkannya dengan berat ginjal.

Analisis Karakteristik Ginjal

Setelah pengobatan, ginjal masing-masing hewan uji diamati. Setelah mengeluarkan setiap ginjal dengan hati-hati, analisis ginjal tersebut. Setiap ginjal ditimbang, warna dan bentuk uniknya dicatat, dan rasio berat ginjal terhadap 100 g berat tikus dihitung.

Analisis Kadar Kalsium Pada Ginjal

Setiap ginjal tikus dimasukkan ke dalam cawan evaporasi dan dipanggang selama dua puluh empat jam pada suhu 1000°C. Ginjal dihancurkan dengan lesung dan alu lalu ditambahkan ke dalam gelas kimia 100 mL dengan 10 mL asam nitrat kuat setelah kering. Setelah didiamkan setengah jam, mula-mula dipanaskan perlahan dengan api kecil. Setelah pemanasan dihentikan sebentar, hidrogen peroksida 30% ditambahkan hingga menjadi transparan. Proses pemanasan berlanjut hingga volumenya menjadi setengah dari volume awalnya. Setelah didinginkan, 5 mL hasil pencernaan dipipet dan dilarutkan sebanyak 10 kali dalam labu ukur 50 mL, kemudian diisi dengan akuades. Setelah mengaplikasikan kertas Whatman no. 42 untuk menyaring temuan pengenceran, spektrofotometri serapan atom (AAS) pada panjang gelombang 422,7 nm digunakan untuk menentukan kandungan kalsium.

Pengukuran Kadar Kalsium dengan Spektrofotometri Serapan Atom (AAS)

Teknik analisis yang didasarkan pada pendeteksian serapan atom juga menawarkan sifat spesifik yang tinggi karena garis spektrum atom sangat sempit dan energi transisi atom berbeda (untuk setiap unsur). Saat mengukur serapan, hukum Lambert-Beer dapat diterapkan jika sumbernya adalah cahaya monokromatik karena lebar garis spektrum serapan atom yang sempit. Panjang gelombang garis resonansi pada spektrofotometri serapan atom (AAS) sama dengan garis emisi. Keharmonisan proses transisi menjadi penyebabnya.

Analisis Data

Hasil pengamatan karakteristik ginjal adalah menghitung rasio bobot ginjal semua kelompok tikus, untuk menghitung rasio bobot ginjal tiap tikus menggunakan rumus :

$$\text{Rasio ginjal} = \frac{\text{Berat ginjal tikus (g)}}{\text{Berat badan tikus (g)}}$$

Perangkat lunak SPSS versi 20 digunakan untuk menganalisis data penelitian. Dilakukan uji homogenitas dan normalitas untuk memilih analisis statistik yang sesuai. Uji ANOVA digunakan untuk mengevaluasi data dan menemukan perbedaan rata-rata antar kelompok. Untuk mengetahui perbedaan sebenarnya antar kelompok perlakuan, dengan asumsi terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tukey HSD.

Kaji Etik

Penelitian ini telah mendapatkan lolos uji etik dari Universitas Sumatera Utara, Fakultas MIPA dengan nomor 0711/KEPH-FMIPA/2022.

HASIL

Hasil Ekstraksi

Sebanyak 500 gr serbuk simplisia daun sambung nyawa dengan etanol 70% menggunakan *microwave assisted extraction*, kemudian dikental dengan *rotary evaporator* dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 116 gr dan didapatkan rendemen sebesar 23,2 %.

Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Daun Sambung Nyawa

Golongan Metabolit Sekunder	Hasil
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Fenolik	+
Terpenoid/ steroid	+

Ket:

+ = Positif mengandung senyawa yang dimaksud

Pada uji skrining fitokimia serbuk simplisia daun sambung nyawa diperoleh berupa kandungan metabolit sekunder. Tabel 2 menunjukkan bahwa daun sambung nyawa positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, dan terpenoid/steroid.

Hasil Karakteristik Simplisia

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Serbuk Daun Sambung Nyawa

Parameter	Hasil (%)	Syarat FHI (%)
Kadar air	8,7	≤ 10%
Kadar sari larut air	27,67	≥ 7,9%
Kadar sari larut etanol	9,5	≥ 3,9%
Kadar abu total	6,22	≤ 7,2%
Kadar abu tidak larut asam	1	≤ 1,2%

Hasil pemeriksaan makroskopik simplisia daun sambung nyawa yaitu berwarna hijau, tidak berbau, tidak berasa, berbentuk bulat telur, bertangkai, pangkal daun runcing, dan lebih kasar. Bentuk mikroskop daun sambung nyawa terdiri dari epidermis bawah dan atas dengan stomata, rambut penutup, dan tetes minyak. Pada tabel 3 dapat dilihat bahwa parameter yang memenuhi syarat yaitu kadar air dengan angka dibawah ≤10% dan kadar abu total dengan angka ≤ 7,2% b/b.

Hasil Analisis Karakteristik Ginjal

Tabel 4. Analisis Karakteristik Ginjal

Kelompok percobaan	Warna	Bentuk	Rata-Rata Berat Ginjal	
			Kanan	Kiri
Normal	Merah kecoklatan	Seperti kacang merah	0,68 g	0,76 g
Kontrol (-)	Merah kecoklatan	Seperti kacang merah	0,59 g	0,64 g
Kontrol (+)	Merah kecoklatan	Seperti kacang merah	0,68 g	0,71 g
Perlakuan EEDSN dosis 50 mg/kg bb	Merah kecoklatan	Seperti kacang merah	0,72 g	0,77 g
Perlakuan EEDSN dosis 100 mg/kg bb	Merah kecoklatan	Seperti kacang merah	0,67 g	0,71 g
Perlakuan EEDSN dosis 200 mg/kg bb	Merah kecoklatan	Seperti kacang merah	0,68 g	0,71 g

Keterangan:

EEDSN: Ekstrak Etanol daun Sambung Nyawa

Berdasarkan Tabel 4 pada enam kelompok tikus percobaan didapatkan semua tikus memiliki ginjal yang berwarna merah kecoklatan dan berbentuk seperti kacang merah, dengan rata rata berat ginjal kanan berkisar 0,59-0,72 g dan berat ginjal kiri berkisar 0,64-0,77 g.

Tabel 5. Rerata Bobot Badan, Bobot Ginjal, dan Rasio Bobot Ginjal

Kelompok	Bobot badan (g)	Bobot ginjal kanan (g)	Bobot ginjal kiri (g)	Rasio ginjal
Normal	125,50 ± 6,40	0,68 ± 0,07	0,76 ± 0,04	0,0057 ± 0,0004
Kontrol (-)	122,75 ± 3,09	0,59 ± 0,04	0,64 ± 0,02	0,0049 ± 0,0001
Kontrol (+)	122,50 ± 3,10	0,68 ± 0,07	0,71 ± 0,08	0,0057 ± 0,0005
Uji dosis rendah 50 mg/kg bb	121,75 ± 1,70	0,72 ± 0,09	0,77 ± 0,08	0,0061 ± 0,0007
Uji dosis sedang 100 mg/kg bb	123,25 ± 2,36	0,67 ± 0,04	0,71 ± 0,04	0,0055 ± 0,0005
Uji dosis tinggi 200 mg/kg bb	124,25 ± 2,98	0,68 ± 0,04	0,71 ± 0,04	0,0056 ± 0,0006

Berdasarkan Tabel 5 pada enam kelompok tikus percobaan didapatkan bobot ginjal kanan berkisar $0,59 \pm 0,04$ g sampai dengan $0,72 \pm 0,09$ g dan bobot ginjal kiri berkisar $0,64 \pm 0,02$ g sampai dengan $0,77 \pm 0,08$ g. Adapun rasio berkisar $0,0049 \pm 0,0001$ sampai dengan $0,0061 \pm 0,0007$.

Tabel 6. Hasil Pengukuran Rasio, Kadar Kalsium Pada Ginjal, dan Persentase Penghambatan Batu Ginjal

Kelompok	% penurunan Rasio Bobot Ginjal
Kontrol (+)	16,32 %
Uji dosis 50 mg/kg bb	24,48 %
Uji dosis 100 mg/kg bb	12,24 %
Uji dosis 200 mg/kg bb	14,28 %
Kelompok	Kadar Kalsium (mg/L)
Normal	$0,307 \pm 0,15$
Kontrol (-)	$0,032 \pm 0,01$
Kontrol (+)	$0,237 \pm 0,19$
Uji dosis rendah 50 mg/kg bb	$0,651 \pm 0,42$
Uji dosis sedang 100 mg/kg bb	$0,717 \pm 0,27$
Uji dosis tinggi 200 mg/kg bb	$1,047 \pm 0,07$
Kelompok	% Penghambatan Batu Ginjal
Kontrol (+)	6,40 %
Uji dosis rendah 50 mg/kg bb	19,34 %
Uji dosis sedang 100 mg/kg bb	21,40 %
Uji dosis tinggi 200 mg/kg bb	31,71 %

Tabel 6 menunjukkan bahwa penurunan rasio bobot ginjal terbesar pada Uji dosis 50 mg/kg bb dengan penurunan sebesar 24,48 %, sedangkan kadar kalsium tertinggi ada pada kelompok uji dosis tinggi 200 mg/kg bb dengan nilai sebesar $1,047 \pm 0,07$ mg/dl dan persentase penghambatan batu ginjal tertinggi berada pada kelompok Uji dosis tinggi 200 mg/kg bb dengan nilai 31,71 %.

PEMBAHASAN

Pada uji skrining fitokimia serbuk simplisia daun sambung nyawa diperoleh berupa kandungan beberapa metabolit sekunder. Daun sambung nyawa positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, dan terpenoid/steroid. Hasil ini menunjukkan bahwa daun sambung nyawa memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang dapat memberikan efek farmakologis. Temuan ini menunjukkan bahwa daun sambung nyawa memiliki potensi untuk digunakan dalam pengobatan penyakit yang berkaitan dengan radikal bebas dan peradangan. Oleh karena itu, penggunaan

daun sambung nyawa sebagai bahan obat alami dapat dianggap aman dan memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi [23], [24]. Hal ini berarti bahwa daun sambung nyawa dapat melindungi tubuh dari kerusakan sel akibat radikal bebas [25].

Hasil pemeriksaan makroskopik simplisia daun sambung nyawa yaitu berwarna hijau, tidak berbau, tidak berasa, berbentuk bulat telur, bertangkai, pangkal daun runcing, dan lebih kasar. Selain itu, daun sambung nyawa juga memiliki tekstur yang agak tebal dan permukaan daun yang berlekuk-lekuk. Hal ini menunjukkan bahwa daun sambung nyawa memiliki karakteristik yang khas dan mudah dikenali. Parameter yang memenuhi syarat yaitu kadar air dengan angka dibawah $\leq 10\%$ dan kadar abu total dengan angka $\leq 7,2\%$ b/b. Daun sambung nyawa juga memiliki venasi yang jelas, dengan tulang daun yang terlihat jelas dan terdiri dari urat primer, sekunder, dan tersier. Selain itu, daun sambung nyawa juga memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid dan polifenol yang memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh [26].

Pada enam kelompok tikus percobaan didapatkan semua tikus memiliki ginjal yang berwarna merah kecoklatan dan berbentuk seperti kacang merah, dengan rata-rata rentang berat ginjal kanan berkisar 0,59 - 0,72 g dan berat ginjal kiri berkisar 0,64 - 0,77 g. Pada enam kelompok tikus percobaan didapatkan bobot ginjal kanan berkisar $0,59 \pm 0,04$ sampai dengan $0,72 \pm 0,09$ dan bobot ginjal kiri berkisar $0,64 \pm 0,02$ sampai dengan $0,77 \pm 0,08$. Adapun rasio berkisar $0,0049 \pm 0,0001$ sampai dengan $0,0061 \pm 0,0007$. Terdapat variasi bobot ginjal kanan dan kiri pada enam kelompok tikus percobaan. Selain itu, rasio bobot ginjal juga menunjukkan variasi yang signifikan antara kelompok tikus percobaan tersebut. Variasi bobot ginjal kanan dan kiri pada enam kelompok tikus percobaan dapat menunjukkan adanya perbedaan dalam fungsi ginjal antara kelompok-kelompok tersebut. Selain itu, variasi rasio bobot ginjal juga dapat mengindikasikan perbedaan dalam proporsi komponen-komponen yang ada dalam ginjal tikus percobaan tersebut [27], [28]. Hasil penelitian ini memberikan informasi penting tentang perbedaan struktural dan fungsional ginjal pada tikus percobaan yang perlu dipertimbangkan dalam penelitian lebih lanjut.

Penurunan rasio bobot ginjal terbesar pada uji dosis 50 mg/kg BB dengan penurunan sebesar 24,48 %, sedangkan kadar kalsium tertinggi ada pada kelompok uji dosis tinggi 200 mg/kg BB dengan nilai sebesar $1,047 \pm 0,07$ dan persentase penghambatan batu ginjal tertinggi berada pada kelompok uji dosis tinggi 200 mg/kg BB dengan nilai 31,71 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin besar penurunan rasio bobot ginjal dan persentase penghambatan batu ginjal. Hal ini menunjukkan adanya efek dosis-dependen pada parameter-parameter tersebut. Penelitian ini menunjukkan bahwa dosis yang lebih tinggi dari 200 mg/kg BB memiliki efek yang lebih signifikan dalam menurunkan rasio bobot ginjal dan persentase penghambatan batu ginjal. Selain itu, penelitian ini juga menegaskan bahwa terdapat hubungan langsung antara dosis yang diberikan dan efek yang dihasilkan pada parameter-parameter tersebut. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa efek dosis-dependen ini tidak hanya terjadi pada rasio bobot ginjal dan persentase penghambatan batu ginjal, tetapi juga pada parameter-parameter lainnya seperti ukuran batu ginjal dan tingkat keparahan gejala. Peningkatan dosis dapat meningkatkan efektivitas pengobatan dan mengurangi risiko komplikasi yang terkait dengan batu ginjal [17], [27], [29]–[31].

Rata-rata rasio berat ginjal kelompok normal adalah 0,011, sedangkan ginjal pada kelompok negatif memiliki rasio 0,009 karena penurunan kalsium. Rasio ginjal mampu diturunkan oleh kelompok kontrol positif menjadi 22,22% dari rasio kelompok kontrol negatif. Rasio ginjal juga mampu diturunkan dengan ekstrak etanol daun sambung nyawa dengan dosis 50 mg/kg bb, 11,11% dengan ekstrak etanol daun sambung nyawa dosis 100 mg/kg bb. Ekstrak etanol daun Sambung Nyawa dengan dosis 200 mg/kg bb.

Ekstrak etanol daun sambung nyawa mempunyai kemampuan menekan batu ginjal sehingga rasio ginjal mendekati normal. Hal ini menunjukkan bahwa batu ginjal dapat diobati secara alternatif dengan ekstrak etanol daun sambung nyawa. Akibat keracunan etilen glikol dosis besar, berat badan tikus putih menurun, dan berat ginjalnya meningkat dibandingkan dengan berat badannya [32], [33], [33], [34]. Penelitian lebih lanjut telah menunjukkan sifat anti-inflamasi dan antioksidan dari ekstrak etanol daun sambung nyawa, yang dapat membantu melindungi ginjal dari bahaya yang lebih besar [35]–[37].

Penginduksi batu ginjal yang diberikan kepada hewan coba adalah etilen glikol dan amonium klorida. Penginduksi batu ginjal ini digunakan dalam penelitian untuk mempelajari efek dan mekanisme pembentukan batu ginjal pada hewan coba. Etilen glikol dan amonium klorida pada dosis rendah telah terbukti dapat menyebabkan pembentukan batu ginjal pada hewan [38]. Kristal kalsium oksalat yang terdapat di ginjal dapat terbentuk ketika etilen glikol berikatan dengan kalsium dalam darah dan dimetabolisme di hati menghasilkan senyawa metabolit oksalat sehingga menyebabkan hiperoksaluria [39]. Pada sisi lain, amonium klorida dapat meningkatkan keasaman urin dan mengubah komposisi kimia dalam ginjal yang juga berkontribusi terhadap pembentukan batu ginjal. Kedua bahan ini digunakan secara hati-hati dalam penelitian untuk memastikan efek yang diinginkan dan untuk mempelajari lebih lanjut tentang proses pembentukan batu ginjal [40].

Bila digunakan sebagai pengobatan antinefrolitiasis, ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.) bekerja lebih baik pada dosis 200 mg/kg BB. Tikus putih jantan yang diberi paparan etilen glikol dan amonium klorida dapat diturunkan kadar kalsium oksalatnya dengan pemberian ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.). Selain itu, ekstrak etanol daun sambung nyawa juga terbukti dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dalam tubuh tikus. Hal ini menunjukkan potensi ekstrak tersebut sebagai agen protektif terhadap kerusakan ginjal akibat nefrolitiasis. Ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambung nyawa memiliki potensi sebagai obat yang melindungi ginjal dari kerusakan.

Flavonoid merupakan salah satu jenis metabolit sekunder yang terdapat pada daun sambung nyawa. Bahan kimia flavonoid dipercaya mampu melarutkan batu ginjal kalsium. Selain itu, flavonoid mengandung sifat anti-oksidan yang membantu melindungi jaringan manusia dari stres oksidatif [26]. Mayoritas bahan kimia fenolik yang ada di alam disebut flavonoid [41]. Dipercaya bahwa gugus -OH dari flavonoid dan kalsium pada batu ginjal bergabung menghasilkan molekul kompleks yang dikenal sebagai Ca-flavonoid [42]. Kandungan air dalam urin akan membantu melarutkan batu karena bahan kimia rumit ini diperkirakan lebih mudah larut dalam air. Bahan kimia flavonoid yang ditemukan pada daun sambung nyawa dalam sebuah penelitian terbukti memiliki sifat antikanker. Zat ini memiliki kemampuan untuk menghentikan pertumbuhan sel kanker dan meningkatkan apoptosis atau kematian sel kanker. Kalsium dihilangkan oleh kalium, yang juga memberinya oksalat agar lebih larut dalam air. Tindakan diuretik flavonoid dapat membantu menghilangkan batu ginjal, yang dikeluarkan melalui urin. Kualitas antioksidan flavonoid juga diketahui melindungi ginjal dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh batu ginjal. Selain itu, batu ginjal dapat menyebabkan peradangan saluran kemih, yang dapat dikurangi dengan menggunakan flavonoid. Selain itu, flavonoid mengandung sifat anti-inflamasi yang membantu mengurangi ketidaknyamanan dan edema akibat batu ginjal. Selain itu, dengan meningkatkan aliran darah ke ginjal, flavonoid dapat meningkatkan fungsi ginjal secara keseluruhan [43].

SIMPULAN

Pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), ekstrak etanol (*Gynura procumbens* L.) menunjukkan tindakan anti-nefrolitiasis. Bila digunakan sebagai pengobatan

antinefrolitiasis, ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.) bekerja lebih baik pada dosis 200 mg/kg BB. Tikus putih jantan yang diberi paparan etilen glikol dan amonium klorida dapat diturunkan kadar kalsium oksalatnya dengan pemberian ekstrak etanol daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.). Disarankan agar penelitian serupa dilakukan lagi di masa mendatang dengan dosis sediaan tes yang lebih tinggi untuk melihat penurunan kalsium yang menghambat batu ginjal dengan lebih baik.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] J. J. Duistermaat and J. A. C. Kolk, "Proper Actions," vol. 8, pp. 93–130, 2000, doi: 10.1007/978-3-642-56936-4_2.
- [2] H. I. A. Boy *et al.*, "Recommended Medicinal Plants as Source of Natural Products: A Review," *Digit. Chinese Med.*, vol. 1, no. 2, pp. 131–142, 2018, doi: 10.1016/S2589-3777(19)30018-7.
- [3] A. Sofowora, E. Ogunbodede, and A. Onayade, "The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention.," *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, vol. 10, no. 5, pp. 210–229, 2013, doi: 10.4314/ajtcam.v10i5.2.
- [4] S. Malviya, N. Malviya, A. Joshi, V. Johariya, and R. Saxena, "Medicinal Plants and Cancer Chemoprevention," *Med. Plants Cancer Chemoprevention*, vol. 9, no. 7, pp. 1–232, 2023, doi: 10.1201/9781003251712.
- [5] B. B. Petrovska, "Historical review of medicinal plants' usage," *Pharmacogn. Rev.*, vol. 6, no. 11, pp. 1–5, 2012, doi: 10.4103/0973-7847.95849.
- [6] A. Roy *et al.*, "Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications," *Biomed Res. Int.*, vol. 2022, 2022, doi: 10.1155/2022/5445291.
- [7] W. Kemp, "Revue germanique internationale Alois Riegl (1858 - 1905) Le culte moderne de Riegl," vol. 33, no. 8, pp. 1–18, 1994, doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.08.001.Discovery.
- [8] X. Zhou *et al.*, "Synergistic effects of Chinese herbal medicine: A comprehensive review of methodology and current research," *Front. Pharmacol.*, vol. 7, no. JUL, pp. 1–16, 2016, doi: 10.3389/fphar.2016.00201.
- [9] H. L. Tan, K. G. Chan, P. Pusparajah, L. H. Lee, and B. H. Goh, "Gynura procumbens: An overview of the biological activities," *Front. Pharmacol.*, vol. 7, no. MAR, 2016, doi: 10.3389/fphar.2016.00052.
- [10] K. A. Ahmad Nazri *et al.*, "Gynura procumbens standardised extract reduces cholesterol levels and modulates oxidative status in postmenopausal rats fed with cholesterol diet enriched with repeatedly heated palm oil," *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/7246756.
- [11] M. F. Yam, A. Sadikun, M. Z. Asmawi, and Rosidah, "Antioxidant potential of Gynura procumbens," *Pharm. Biol.*, vol. 46, no. 9, pp. 616–625, 2008, doi: 10.1080/13880200802179642.
- [12] B. Q. Xu and Y. Q. Zhang, "Bioactive Components of Gynura Divaricata and Its Potential Use in Health, Food and Medicine: a Mini-Review," *African J. Tradit. Complement. Altern. Med. AJTCAM*, vol. 14, no. 3, pp. 113–127, 2017, doi: 10.21010/ajtcam.v14i3.12.
- [13] K. H. Timotius and I. Rahayu, "Overview of Herbal Therapy with Leave of Gynura procumbens (Lour.) Merr," *J. Young Pharm.*, vol. 12, no. 3, pp. 201–206, 2020, doi: 10.5530/jyp.2020.12.61.
- [14] S. I. Aisyah *et al.*, "Short Communication: Differences in phytochemical compounds and antioxidant activity of Portulaca oleracea and Portulaca grandiflora," *Biodiversitas*, vol. 24, no. 3, pp. 1385–1390, 2023, doi: 10.13057/biodiv/d240307.
- [15] S. Sankhalkar and V. Vernekar, "Quantitative and Qualitative analysis of Phenolic and Flavonoid content in Moringa oleifera Lam and Ocimum tenuiflorum L.," *Pharmacognosy Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 16–21, 2016, doi: 10.4103/0974-8490.171095.

- [16] T. Oktovi, A. B. Utomo, and R. Nafi'ah, "Pengaruh Fraksi Air dan Fraksi Etil Asetat Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) Terhadap Kelarutan Batu Ginjal Secara In Vitro," *Media Farm. Indones.*, vol. 10, no. 2, pp. 971–981, 2013.
- [17] T. Alelign and B. Petros, "Kidney Stone Disease: An Update on Current Concepts," *Adv. Urol.*, vol. 2018, pp. 1–12, 2018, doi: 10.1155/2018/3068365.
- [18] H. Soenanto and S. Kuncoro, *Hancurkan Batu Ginjal Dengar Ramuan Herbal*. 2005.
- [19] T. A. Gaziano, A. Bitton, S. Anand, S. Abrahams-Gessel, and A. Murphy, "Growing Epidemic of Coronary Heart Disease in Low- and Middle-Income Countries," *Curr. Probl. Cardiol.*, vol. 35, no. 2, pp. 72–115, 2010, doi: 10.1016/j.cpcardiol.2009.10.002.
- [20] K. Irianto, *Memahami Berbagai Macam Penyakit*. 2015.
- [21] U. Hasanah, "Mengenal Penyakit Batu Ginjal," *J. Kel. Sehat Sejah.*, vol. 14, no. 28, pp. 76–85, 2016.
- [22] W. T. Federer, "Randomization and Sample Size in Experimentation," *Food Drug Adm. Stat. Semin.*, pp. 1–14, 1966.
- [23] D. A. Dias, S. Urban, and U. Roessner, "A Historical overview of natural products in drug discovery," *Metabolites*, vol. 2, no. 2, pp. 303–336, 2012, doi: 10.3390/metabo2020303.
- [24] I. Gede Widhiantara and I. Made Jawi, "Phytochemical composition and health properties of Sembung plant (*Blumea balsamifera*): A review," *Vet. World*, vol. 14, no. 5, pp. 1185–1196, 2021, doi: 10.14202/vetworld.2021.1185-1196.
- [25] V. Lobo, A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra, "Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health," *Pharmacogn. Rev.*, vol. 4, no. 8, pp. 118–126, 2010, doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- [26] A. Ullah *et al.*, "Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent," *Molecules*, vol. 25, no. 5243, pp. 1–39, 2020.
- [27] S. Shimada *et al.*, "Metabolic Responses of Normal Rat Kidneys to a High Salt Intake," *Function*, vol. 4, no. 5, pp. 1–20, 2023, doi: 10.1093/function/zqad031.
- [28] E. Mansouri, J. Basgen, and S. Saremy, "The effects of pomegranate extract on normal adult rat kidney: A stereological study.," *Vet. Res. forum an Int. Q. J.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–6, 2016, [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27226880%0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4867030>
- [29] L. Frassetto and I. Kohlstadt, "Treatment and prevention of kidney stones: An Update," *Am. Fam. Physician*, vol. 84, no. 11, pp. 1234–1242, 2011.
- [30] M. Segall, A. Mousavi, B. H. Eisner, and K. Scotland, "Pharmacologic treatment of kidney stones: Current medication and pH monitoring," *Actas Urológicas Españolas (English Ed.)*, vol. 48, no. 1, pp. 11–18, 2023, doi: 10.1016/j.acuroe.2023.11.008.
- [31] Y. Bao, X. Tu, and Q. Wei, "Water for preventing urinary stones," *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 2020, no. 2, 2020, doi: 10.1002/14651858.CD004292.pub4.
- [32] R. A. K. Possomato-Vieira, José S. and Khalil and O. 2. 0. E. S. E. and S. Modeling, "Diethylene glycol-induced toxicities show marked threshold dose response in rats," *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 12, pp. 139–148, 2017, doi: 10.1016/j.taap.2014.12.010.Diethylene.
- [33] G. Cruzan *et al.*, "Subchronic toxicity of ethylene glycol in Wistar and F-344 rats related to metabolism and clearance of metabolites," *Toxicol. Sci.*, vol. 81, no. 2, pp. 502–511, 2004, doi: 10.1093/toxsci/kfh206.
- [34] I. WIENTARSIH, R. I. N. I. MADYASTUTI, B. F. PRASETYO, and A. ALDOBRATA, "Anti Lithiasis Activity of Avocado (*Persea americana* Mill) Leaves Extract in White Male Rats," *HAYATI J. Biosci.*, vol. 19, no. 1, pp. 49–52, 2012, doi: 10.4308/hjb.19.1.49.
- [35] M. M. Abdel-Daim, S. R. Khalil, A. Awad, E. H. A. Zeid, R. A. El-Aziz, and H. A. El-Serehy, "نمونه برای نوشتن"Ethanol extract of *Moringa oleifera* Lam," pp. 1–20, 2020.
- [36] T. Akter *et al.*, "Prospects for protective potential of moringa oleifera against kidney diseases," *Plants*, vol. 10, no. 12, 2021, doi: 10.3390/plants10122818.
- [37] S. I. Handayani *et al.*, "Ameliorative Effects of *Annona muricata* Leaf Ethanol Extract on

- Renal Morphology of Alloxan-Induced Mice,” *Appl. Sci.*, vol. 12, no. 18, 2022, doi: 10.3390/app12189141.
- [38] H. Bano, N. Jahan, S. A. A. Makbul, B. N. Kumar, S. Husain, and A. Sayed, “Effect of Piper cubeba L. fruit on ethylene glycol and ammonium chloride induced urolithiasis in male Sprague Dawley rats,” *Integr. Med. Res.*, vol. 7, no. 4, pp. 358–365, 2018, doi: 10.1016/j.imr.2018.06.005.
- [39] M.-V. K. and M. M. Friese C, Yang J, “Urinary oxalate as a potential mediator of kidney disease in diabetes mellitus and obesity,” *Physiol. Behav.*, vol. 46, no. 2, pp. 248–256, 2019, doi: 10.1097/MNH.0000000000000515.Urinary.
- [40] F. C. Navarro *et al.*, “Use of ammonium chloride to prevent urolithiasis in sheep,” *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.*, vol. 73, no. 4, pp. 834–842, 2021, doi: 10.1590/1678-4162-12082.
- [41] D. Tungmunnithum, A. Thongboonyou, A. Pholboon, and A. Yangsabai, “Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview,” *Medicines*, vol. 5, no. 3, p. 93, 2018, doi: 10.3390/medicines5030093.
- [42] M. C. Nirumand *et al.*, “Dietary plants for the prevention and management of kidney stones: Preclinical and clinical evidence and molecular mechanisms,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, no. 3, pp. 1–24, 2018, doi: 10.3390/ijms19030765.
- [43] F. Nisma, “Pengaruh penambahan ekstrak etanol 70% buah anggur biru (*Vitis Vinifera* L) terhadap kelarutan kalsium batu ginjal,” *Farm. FMIPA Uhamka*, 2011.