

Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap Struktur dan Morfometri Ren Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)

Kasiyati, Siti Nabela dan Agung Janika Sitasawi*

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Prof. Soedarto, Semarang, Indonesia, 50275.

*email korespondensi: agssiwi@yahoo.co.id

Received 26 August 2021, Accepted 29 June 2022, Published 15 July 2022

Abstrak: Fenugreek menjadi salah satu tanaman herbal yang diteliti karena khasiatnya dapat mengobati berbagai penyakit. Ekstrak biji fenugreek memiliki kandungan senyawa antioksidan flavonoid berupa polifenol yang memiliki peran mengurangi stress oksidatif, menangkap radikal bebas, memperbaiki fungsi ginjal, dan menjaga fungsi ginjal dalam kondisi normal. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak biji fenugreek selama 30 hari dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB terhadap struktur dan morfometri ren tikus putih. Parameter yang diamati adalah diameter glomerulus, bobot ginjal, tebal kapsula Bowman, dan kadar eritrosit. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan yaitu P0 (tikus normal diberi aquades), P1 (tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 500 mg/kg BB), P2 (tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 1000 mg/kg BB), dan P3 (tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 1500 mg/kg BB). Uji analisis statistik menggunakan ANOVA-satu arah yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji fenugreek pada dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh yang bermakna ($p>0,05$) terhadap diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, dan kadar eritrosit. Sedangkan pemberian ekstrak biji fenugreek pada dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB memberikan bobot organ ginjal berbeda bermakna. Ekstrak biji fenugreek dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB tidak mengubah struktur dan morfometri ren tikus putih, sehingga aman digunakan sebagai obat.

Kata kunci: eritrosit; fenugreek; glomerulus; kapsula Bowman

Abstract. Effect of Fenugreek Seed Extract (*Trigonella foenum-graecum* L.) on the Structure and Morphometry of Ren White Rats (*Rattus norvegicus* L.). Fenugreek is one of the herbal plants being researched because of its properties to treat various diseases. Fenugreek seed extract contains flavonoid antioxidant compounds in the form of polyphenols which have a role in reducing oxidative stress, capturing free radicals, improving kidney function, and maintaining kidney function in normal conditions. This study aimed to examine the effect of giving fenugreek seed extract for 30 days at a dose of 500 mg / kg BW, 1000 mg / kg BW, and 1500 mg / kg BW on the structure and morphometry of white rats indicated by glomerular diameter, kidney weight, and capsule Bowman thickness, and erythrocyte levels. This study applied a completely randomized design consisting of 4 treatment groups, namely P0 (normal rats were given distilled water), P1 (normal rats were given fenugreek seed extract at a dose of 500 mg / kg BW), P2 (normal rats were given fenugreek seed extract at a dose of 1000 mg / kg. BW), and P3 (normal mice were given fenugreek seed extract at a dose of 1500 mg / kg BW). The statistical analysis test used one-way ANOVA followed by Duncan's test. The results showed that there was no significant effect ($p>0.05$) from treatment fenugreek seed

extract on the glomerular diameter, Bowman's capsule thickness, and erythrocyte levels, while the weights of the kidney were significantly different. The conclusion of this study was that fenugreek seed extract at a dose of 500 mg / kg BW, 1000 mg / kg BW, and 1500 mg / kg BW did not change the structure and morphometry of white rat kidneys. Fenugreek seed extract with doses of 500 mg/kg BW, 1000 mg/kg BW, and 1500 mg/kg BW did not change the structure and morphometry of white rat ren, so it might safe to use as medicine.

Keywords: erythrocytes; fenugreek; glomerulus; Bowman's capsule

1. Pendahuluan

Pengobatan tradisional terus meningkat beberapa tahun terakhir ini untuk menemukan bahan herbal. Tanaman herbal digunakan sebagai upaya pengobatan di masyarakat dinilai lebih aman daripada menggunakan obat sintetik. Herbal menjadi alternatif teknik pengobatan sehingga eskplorasi penelitian untuk mengetahui kandungan dan manfaat herbal terus berkembang hingga saat ini. Fenugreek menjadi salah satu tanaman herbal yang diteliti karena khasiatnya dapat mengobati berbagai penyakit (Nathiya *et al.*, 2014). Masyarakat Indonesia menggunakan obat herbal tradisional dari biji fenugreek. Biji fenugreek di Indonesia disebut biji klabet yang mampu mengobati arthritis, asma, bronkitis, masalah kulit, sakit tenggorokan, masalah ginjal, diare, influenza, TBC, laryngitis, meningkatkan kemampuan pencernaan, menurunkan demam, konstipasi, pneumonia, regulasi gula darah, mengurangi rasa sakit menstruasi, sakit tenggorokan, dan menambah berat badan (Nathiya *et al.*, 2014). Biji fenugreek telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional karena dipercaya dapat menyembuhkan penyakit hipolidemik, hipotensi, dan hipoglikemik. Laporan penelitian Hamadi (2012) menunjukkan fenugreek dapat meningkatkan regenerasi pankreas pada penyakit hipoglikemia dan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Hamadi, 2012). Zhou (2020) menemukan bahwa ekstrak fenugreek memiliki manfaat memodulasi glukosa pada plasma manusia serta hemoglobin. Fenugreek memberi manfaat pada perbaikan fungsi hati dan ginjal.

Gangguan ginjal dapat dicegah dengan mengkonsumsi suplemen biji fenugreek. Efek kandungan fenol pada biji fenugreek memengaruhi pengurangan kadar urea, kreatinin serum, fibrosis, kerusakan tubular, dan penebalan membran basal glomerulus. Ekstrak fenugreek sangat efektif dan penting sebagai sumber antioksidan alami yang mampu mencegah peroksidasi lipid pada ginjal (Mbarki *et al.*, 2017). Struktur ginjal yang diberi perlakuan ekstrak fenugreek 25% menunjukkan tidak ada perubahan, ditandai dengan glomerulus, tubulus, dan pembuluh darah kortikal normal, demikian juga pada bagian medulla terlihat tubulus, pembuluh darah, dan jaringan interstitial yang normal. Ekstrak biji fenugreek pada dosis 25% aman digunakan sebagai obat hipokolesterolemik tanpa efek samping pada struktur dan fungsi ginjal tikus (Badr, 2017).

Struktur ginjal tikus yang normal terlihat dari gambaran sel-sel yang tampak normal. Glomerulus terlihat dengan kumpulan sel-sel yang rapat dan berbentuk seperti lingkaran. Tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal dalam kondisi baik tidak mengalami pembengkakan maupun penyempitan, lumen tubulus jelas, dan inti sel bulat (Windhartono *et al.*, 2013). Hasil penelitian Walean *et al.* (2018) menyatakan bahwa tikus yang normal terlihat jelas tubulus ginjal dan korpus renalis. Sel-sel podosit pada korpus dengan inti yang jelas, kapiler-kapiler pada glomerulus, dan ruang kapsular renalis tampak jelas, pada tubulus memperlihatkan lumen dengan sel-sel inti yang jelas, dan masih utuh.

Morfometri adalah metode pengukuran terhadap variasi perubahan bentuk serta ukuran tubuh dari suatu organisme. Pengukuran metode morfometri memiliki keuntungan, yaitu morfometri memberikan deskripsi atau gambaran elemen kuantitatif. Data-data pengukuran bobot ginjal, diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, dan kadar eritrosit yang disajikan dalam bentuk angka digunakan sebagai perbandingan diantara bentuk-bentuk morfologi yang berbeda. Morfometri dapat dipakai dalam perbandingan secara objektif, apabila perbedaan bentuk diubah pada data berbentuk angka. Hasil analisis data morfometri dapat digunakan untuk mengetahui bagian yang terjadi perubahan, sehingga memberikan referensi terhadap penelitian yang akan dilakukan (Zelditch *et al.*, 2012). Faktor yang mempengaruhi perubahan struktur dan morfometri ginjal tikus, yaitu adanya gangguan fungsi ginjal akibat penyakit (seperti diabetes dan batu ginjal), zat kimia, radikal bebas, dan senyawa oksigen reaktif (ROS: Reactive Oxygen Species). Kandungan senyawa antioksidan flavonoid berupa polifenol pada biji fenugreek memiliki mekanisme kerja dalam mengurangi stress oksidatif, menangkap radikal bebas, memperbaiki fungsi ginjal dan menjaga fungsi ginjal dalam kondisi normal. Polifenol juga memperbaiki fibrosis interstisial ginjal. Fibrosis ginjal berkurang melalui penghambatan stress oksidatif, dan menekan deposit kolagen interstisial ginjal (Vargas *et al.*, 2018).

Ginjal memiliki peran yang dominan dalam pembentukan eritropoietin untuk mengurangi gangguan aktifitas hematopoiesis yang disebabkan oleh paparan logam berat. Hematopoiesis diukur menggunakan nilai eritrosit (Yanuartono *et al.*, 2019). Aktivasi hormon eritropoietin pada ginjal berperan merangsang produksi sel darah merah pada sumsum tulang belakang (Price & Wilson, 2012). Ginjal juga berfungsi menyaring darah serta berperan dalam pengambilan zat-zat hasil metabolisme. Zat-zat yang diambil dari darah akan diubah menjadi urin (Guyton & Hall, 2014). Penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak biji fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap struktur dan morfometri ren tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) belum pernah dilakukan sebelumnya. Sehingga penelitian ini sangat penting dilakukan untuk

mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak biji fenugreek terhadap struktur dan morfometri ren tikus putih.

2. Bahan dan Metode

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 36 set kandang pemeliharaan tikus (Fengshi), rotary evaporator (IKA RV8V), lemari pendingin (Kirsch), timbangan analitik (Denver), alat pemanas (Rinnai), thermohigrometer (Beureur), spuit injeksi ukuran 5 ml (One Med), sonde (Obsidi Medical), satu set alat bedah (Marwa), wadah plastic (IKEA Pruta), timbangan digital dengan ketelitian 0,01 gram (Cova Voralo), Hematology analyzer (Glory), rotary microtome (Roundfin), gelas penutup (Kyodo), mikroskop (Leica), fotomikrograf (Olympus). Bahan yang digunakan, yaitu pakan standar jenis A594 (Comfeed), air minum, sekam padi, ekstrak biji fenugreek, etanol 70% (Shagufta), lateks (Shamrock), kloroform (Emplura), larutan garam fisiologis (Braun), larutan 10% Buffer Neutral Formalin /BNF (One Med), lithium karbonat (One Med), entelen (Darmastd), larutan parafin (Bartoline), xylol dan hematoxylin ehrlich-eosin (H&E) (Scytex). Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus* L.) Strain Wistar berumur satu bulan sebanyak 36 ekor.

2.1. Pembuatan ekstrak biji fenugreek

Biji fenugreek diperoleh dari Libya. Biji fenugreek dideterminasi di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang. Biji fenugreek sebanyak 1kg dikeringkan di dalam oven dengan suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$. Biji fenugreek dengan berat 40 gram yang telah kering dihancurkan dan digiling menggunakan grinder. kemudian diayak sehingga diperoleh bentuk serbuk. Pembuatan ekstrak fenugreek dilakukan dengan merendam serbuk fenugreek dengan 2 liter etanol 70% selama 2 hari. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring. Hasil penyaringan diuapkan dengan alat rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kering, selanjutnya ekstrak biji fenugreek disimpan di lemari pendingin. Ekstraksi biji fenugreek dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang.

2.2. Persiapan kandang dan hewan uji

Kotoran dari kandang tikus dibersihkan menggunakan sikat, sabun, dan air bersih dengan tujuan menghilangkan kotoran yang menempel. Kandang penelitian yang digunakan memiliki ukuran $20 \times 30 \text{ cm}^2$ yang diisi satu ekor tikus. Setiap kandang dilengkapi dengan sekam sebagai alas, tempat pakan, dan tempat minum.

Kriteria hewan uji yang digunakan, yaitu tikus berjenis kelamin jantan, berat badan ± 100 gram, kondisi normal, dan tidak sakit sebelum diberi perlakuan. Tikus putih diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan pemberian perlakuan dan manajemen lingkungan

kandang Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Tikus putih ditimbang terlebih dahulu pada akhir aklimatisasi untuk mengetahui bobot badan awal. Tikus kemudian dikelompokkan secara acak dalam 4 kelompok perlakuan.

2.3. Pemberian pakan dan minum

Pakan yang diberikan pada tikus yaitu pakan standar jenis A594. Pemberian pakan dan minum untuk setiap perlakuan P0, P1, P2, dan P3 secara *ad libitum*. Pemberian pakan dan minum diberikan setiap hari satu kali di pagi hari selama 30 hari pemeliharaan hewan coba. Pengukuran konsumsi pakan dilakukan setiap 3 hari sekali dengan takaran per hari sejumlah 15 gram. Pengukuran konsumsi minum dilakukan setiap hari.

2.4. Pemeliharaan hewan uji

Tikus ditimbang setiap minggu selama 30 hari untuk mengetahui pertambahan bobot badan tikus. Suhu dan kelembapan kandang tikus diukur menggunakan thermohigrometer. Pengukuran suhu dan kelembapan dilakukan setiap jam 4 sore hari. Penggantian sekam dilakukan setiap 3 kali sehari.

2.5. Pemberian perlakuan hewan uji

Ekstrak fenugreek diberikan setiap sore hari sesuai dengan takaran dosis setiap perlakuan, yaitu P0 (Kontrol) tikus normal diberi aquades; P1, tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek sebanyak 500 mg/kg BB; P2, tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek sebanyak 1.000 mg/kg BB; dan P3, tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek sebanyak 1.500 mg/kg BB.

Perlakuan dilaksanakan menggunakan spuit berkanul yang dipasang pada *syringe* 5 ml. Selanjutnya, dilakukan handling tikus dengan teknik *scrubing*, yaitu dengan memegang ekor tikus kemudian diangkat secara perlahan ke permukaan kawat penutup kandang. Ekor ditahan menggunakan jari kelingking kepala tikus ditempatkan diantara jari telunjuk dan jari tengah. Jika tikus sudah dalam kondisi nyaman, tenang, dan tidak berontak dilanjutkan dengan perlakuan oral, yaitu memasukan *syringe* berkanul secara perlahan ke dalam cavum oris sampai lambung tikus, piston *syringe* ditekan pelan hingga seluruh ekstrak fenugreek masuk ke dalam lambung. Secara perlahan spuit ditarik keluar dari lambung dan cavum oris tikus (Darusman *et al.*, 2018).

2.6. Tahap koleksi sampel

Tahap koleksi sampel dimulai dengan menyiapkan alat diseksi, wadah plastik, dan kloroform. Tikus dimasukkan ke dalam wadah plastik berisi kapas yang dibasahi kloroform sebanyak ± 10 tetes sebagai pembius, setelah beberapa menit hewan uji pingsan lalu dikeluarkan dari wadah. Tikus diletakkan di atas bak paraffin dengan bagian anterior menghadap ke atas,

kemudian diseksi dilakukan dengan memotong jaringan kulit dari bagian bawah menuju bagian atas abdomen. Pengambilan sampel darah dilakukan dengan cara sampel darah diambil dari bagian jantung tikus menggunakan spuit, kemudian segera dimasukkan dalam tabung EDTA setelah itu di homogenkan dengan cara memutar tabung EDTA secara perlahan dan hati-hati. Selanjutnya, organ ginjal diisolasi. Organ ginjal yang digunakan adalah ginjal sebelah kiri. Pembedahan dan pengambilan organ menggunakan alat-alat bedah. Organ ginjal yang terambil selanjutnya ditimbang dengan timbangan digital ketelitian 0,01 gram, lalu dicuci dengan larutan garam fisiologis. Setelah itu organ ginjal dimasukkan ke dalam botol sampel yang berisi BNF untuk fiksasi.

2.7. Pengukuran jumlah eritrosit

Jumlah eritrosit diukur di Laboratorium Kesehatan Hewan Semarang. Pengukuran jumlah eritrosit menggunakan alat *Hematology Analyzer*. Alat *hematology analyzer* dinyalakan. Setelah itu tombol Whole Blood “WB” ditekan pada layar monitor, tombol ID ditekan dan nomor sampel dimasukkan, lalu ditekan tombol enter. Bagian atas dari tempat sampel ditekan dan sampel diletakkan di dalam adaptor. Tempat sampel ditutup hingga rapat, setelah itu tombol “RUN” ditekan. Secara otomatis hasil akan muncul di layar, kemudian mesin print mencetak hasil dari jumlah eritrosit.

2.8. Pembuatan dan pewarnaan preparat

Preparat histologi ren dibuat dengan proses pembedahan, pengambilan sampel, fiksasi, dehidrasi, penjernihan, pencetakan, pemotongan, pewarnaan, dan pengamatan dengan mikroskop cahaya. Ginjal ditimbang menggunakan timbangan analitik ketelitian 0,01 gram. Setelah itu dicuci dengan menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,9% selama 30 menit. Selanjutnya difiksasi dengan larutan BNF 10%. Jaringan yang telah difiksasi kemudian didehidrasi menggunakan alkohol bertingkat, yaitu alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96% masing-masing dilakukan selama 2 jam dan dilanjutkan dengan alkohol absolut I selama 2 jam dan alkohol absolut II selama 2 jam. Setelah proses dehidrasi, dilanjutkan dengan penjernihan menggunakan toluene I dan toluene II masing-masing selama 2 jam. Penjernihan juga dilakukan dengan xilol I dan xilol II masing-masing selama 2 jam. Setelah itu dilanjutkan infiltrasi parafin yaitu jaringan ginjal ditanam dalam media parafin I dan Parafin II selama 2 jam, selanjutnya dilakukan penyayatan dengan ketebalan 4-5 mikron menggunakan rotary mikrotom (Berata *et al.*, 2017).

Hasil sayatan diletakkan pada kaca objek kemudian dilakukan pewarnaan hematoksilin eosin (HE) dengan urutan xilol (3 kali pada larutan yang berbeda) selama 5 menit dan alkohol absolut selama 5 menit, selanjutnya dengan alkohol 95%, alkohol 80%, lalu dicuci dengan air

keran selama 1 menit. Tahap selanjutnya adalah pewarnaan dengan menggunakan Mayer's haematoxylin, lalu dicuci dengan air kran masing-masing selama 30 detik, litium karbonat selama 15-30 detik, dicuci dengan air keran selama 1 menit, kemudian dicelupkan sebanyak 4 kali dalam alkohol asam dan dibilas selama 15 menit. Pewarnaan dengan eosin dilakukan selama 4 menit. Pewarnaan kemudian dilanjutkan dengan mencuci sediaan dengan air keran selama 3 menit, dicelupkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 96% masing-masing selama 3 menit. Proses selanjutnya adalah perendaman dalam etanol selama 3 menit, xilol III, dan xilol IV selama 3 menit. Setelah proses pewarnaan selesai, kaca preparat dikeringkan, dan ditetesi dengan zat perekat berupa entelen, selanjutnya ditutup dengan kaca objek dan siap untuk diamati di bawah mikroskop cahaya (Berata *et al.*, 2017).

2.9. Pengamatan preparat

Preparat histologi yang diamati adalah struktur ren tikus putih yang diberi ekstrak biji fenugreek dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan Semarang. Preparat histologi diamati dibawah mikroskop Leica DM750 dengan perbesaran 10×10 dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan pada 3 bidang pandang. Satu bidang pandang terdapat lima glomerulus yang diteliti. Jumlah preparat yang diamati berjumlah 14 sampel.

2.10. Analisis data

Data hasil pengamatan histologi yang berupa bobot organ ginjal, diameter glomerulus, dan tebal kapsula Bowman dikumpulkan dan diuji normalitasnya. Data dikatakan terdistribusi normal jika $P > 0,05$. Analisis data dilanjutkan dengan uji homogenitas, jika nilai $P > 0,05$ berarti data yang didapatkan homogen. Selanjutnya, dilakukan uji statistik ANOVA-satu arah pada taraf kepercayaan 95%, lalu data bobot ginjal dilanjutkan dengan uji Duncan. Pengujian statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 26.0 (Badr, 2017).

3. Hasil dan Pembahasan

Rata-rata hasil analisis statistik diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, bobot ren kiri, kadar eritrosit, serta konsumsi minum tikus setelah paparan ekstrak biji fenugreek selama 30 hari disajikan pada Tabel 1. Analisis statistik ANOVA-satu arah yang dilakukan pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak fenugreek pada tikus penelitian berpengaruh tidak signifikan pada diameter glomerulus dan tebal kapsula Bowman.

Ekstrak fenugreek diberikan pada dosis 500, 1.000, dan 1.500 mg/kgBB pada tikus penelitian tidak menyebabkan perubahan ukuran glomerulus dan kapsula Bowman. Komponen bioaktif ekstrak biji fenugreek diduga mampu mempertahankan fungsi fisiologis ginjal sehingga ukuran glomerulus maupun kapsula Bowman tidak berubah. Noura *et al.* (2013) menyebutkan bahwa ekstrak biji fenugreek yang diberikan pada tikus normal tidak merubah

morfologi dan fungsi fisiologi ginjal karena adanya senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan. Kapase *et al.* (2013) juga mengemukakan bahwa ekstrak biji fenugreek memiliki pengaruh renoprotektif, yaitu memberikan perlindungan terhadap ginjal dengan cara menghambat stres oksidatif, menurunkan fibrosis, dan apoptosis. Suarsana *et al.* (2013) menyatakan bahwa stres oksidatif di ginjal dapat terjadi karena jumlah radikal bebas yang lebih banyak dibanding dengan antioksidan sehingga terjadi penurunan kemampuan antioksidan dalam menetralkan radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel-sel ginjal.

Tabel 1. Rata-rata diameter glomerulus, tebal kapsula Bowman, bobot ren kiri, kadar eritrosit, dan konsumsi minum tikus setelah paparan ekstrak biji fenugreek. Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). P0: Kontrol, tikus normal diberi aquades; P1: Tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 500 mg/kg BB; P2: Tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 1.000 mg/kg BB; P3: Tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 1.500 mg/kg BB.

Kelompok Perlakuan	Diameter Glomerulus (μm) (Mean \pm SD)	Tebal Kapsula Bowman (μm) (Mean \pm SD)	Bobot Ginjal Kiri (gram) (Mean \pm SD)	Kadar Eritrosit ($10^{12} \times \text{L}$) (Mean \pm SD)	Konsumsi Minum Tikus (mL) (Mean \pm SD)
P0	57,26 ^a \pm 8,08	7,14 ^a \pm 0,86	0,46 ^{bc} \pm 0,04	4,73 ^a \pm 0,72	22,67 ^a \pm 6,59
P1	60,02 ^a \pm 4,36	7,44 ^a \pm 1,71	0,48 ^c \pm 0,01	5,26 ^a \pm 0,46	25,35 ^a \pm 6,29
P2	63,87 ^a \pm 2,72	7,76 ^a \pm 0,02	0,40 ^a \pm 0,08	5,09 ^a \pm 0,52	23,17 ^a \pm 6,33
P3	59,98 ^a \pm 3,40	8,07 ^a \pm 0,95	0,42 ^{ab} \pm 0,04	5,28 ^a \pm 0,81	21,57 ^a \pm 7,91

Hasil analisis statistik ANOVA-satu arah menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata terhadap bobot ginjal tikus putih. Hasil uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antarkelompok perlakuan, yaitu bobot ginjal P0 berbeda signifikan dengan P2 (dosis 1.000 mg/kg BB), bobot ginjal P1 berbeda nyata dengan P2 dan P3. Bobot ginjal tertinggi terdapat pada P1 (500 mg/kg BB), sebaliknya bobot ginjal terendah terdapat pada P2 (1.000 mg/kg BB). Pemberian ekstrak biji fenugreek pada tikus normal dapat mempertahankan bobot ginjal. Adanya aktivitas antioksidan seperti polifenol, saponin, alkaloid, diosgenin, dan steroid diduga dapat meminimalkan pengaruh radikal bebas yang dihasilkan dari metabolisme energi yang berlangsung di dalam ginjal. Beberapa faktor yang diduga dapat memengaruhi bobot ginjal tikus adalah degenerasi lemak, degenerasi hidropis, dan jumlah glomerulus. Namun, faktor-faktor tersebut tidak dijumpai pada penelitian ini.

Laporan penelitian Badr (2017) menunjukkan bahwa ekstrak biji fenugreek memengaruhi bobot ginjal. Komponen fitokimia ekstrak fenugreek bekerja sebagai antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap fungsi ginjal sehingga bobot ginjal dapat dipertahankan. Penelitian sebelumnya, Bektur *et al* (2013) mengemukakan bahwa mekanisme senyawa

antioksidan bekerja melindungi sel-sel penyusun ginjal dengan cara mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga menjadi lebih stabil dan dapat memperbaiki sel yang rusak.

Bobot ginjal terendah terdapat pada kelompok perlakuan P2 (1.000 mg/kg BB) yaitu $0,40 \pm 0,08$. Perubahan bobot ginjal diduga disebabkan perubahan keadaan sel pada ginjal. Michael *et al.* (2007) menyatakan bahwa perubahan bobot organ disebabkan perubahan sel akibat adanya paparan senyawa kimia. Handayani *et al.* (2017) mengemukakan bahwa penurunan berat ginjal terjadi karena sel glomerulus mengalami pengurangan jumlah sel yang disebabkan oleh kematian sel. Salah satu perubahan yang menunjukkan kematian sel yaitu adanya pengurangan massa dan volume sel. Widyarningsih *et al.* (2018) menyatakan bahwa perubahan bobot ginjal dikarenakan adanya perubahan keadaan sel. Price & Wilson (2014) menunjukkan bahwa sel yang mengalami gangguan disebabkan masuknya senyawa asing yang mempengaruhi hilangnya pengaturan volume pada bagian-bagian sel. Pengaturan volume sel berkaitan dengan struktur dan fungsi membran sel. Perubahan struktur dan fungsi membran sel dapat terjadi karena gangguan metabolisme dalam sel sehingga kemampuan sel dalam memompa ion natrium membuat ukuran sel berubah. Faktor lain yang menyebabkan perubahan ukuran sel juga dipengaruhi adanya lipid yang tertimbun di dalam sel sehingga sel mengalami pembengkakan.

Analisis statistik ANOVA-satu arah yang dilakukan pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang tidak signifikan pada kadar eritrosit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji fenugreek P1 dosis 500 mg/kg BB, P2 dosis 1.000 mg/kg BB, dan P3 dosis 1.500 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh negatif terhadap kadar eritrosit. Kadar eritrosit normal tikus putih, yaitu $3,6-13,0 \times 10^{12}/L$. Berdasarkan hasil penelitian kadar eritrosit yang diukur masih dalam rentang kadar eritrosit normal, yaitu $5,09 \times 10^{12}/L$. Artinya, komponen fitokimia fenugreek tidak memberikan dampak negatif pada jumlah eritrosit. Fenugreek mengandung asam amino esensial, vitamin C, vitamin B, dan asam folat yang penting dalam hematopoiesis. Chourasiya *et al.* (2019) menyatakan bahwa fenugreek memiliki kandungan asam amino esensial, vitamin B, vitamin C, asam folat, serta protein yang berperan dalam hematopoiesis. Hoffbrand & Petit (2013) menyatakan bahwa proses pematangan sel eritrosit di dalam sumsum tulang memerlukan hormon eritropoietin dan banyak prekursor. Prekursor yang dibutuhkan pada eritropoiesis, yaitu vitamin C, Vitamin B12, vitamin E, dan oksigen. Vitamin C berfungsi dalam membantu penyerapan zat besi. Vitamin C terlibat dalam absorpsi dan pelepasan besi dari transferrin ke dalam jaringan tubuh. Vitamin C mereduksi besi ferri (Fe^{3+}) mengubahnya

menjadi ferro (Fe^{2+}) pada usus halus, sehingga mudah diabsorpsi. Protein memiliki peran dalam pembentukan eritrosit. Zat besi akan berhubungan dengan molekul protein yang membentuk ferritin dan membentuk transferrin dalam keadaan transpor untuk mengangkut besi yang digunakan pada pembentukan darah atau proses hematopoiesis.

Vitamin C memiliki peran dalam pembentukan eritrosit. Vitamin C dapat mempercepat proses penyerapan mineral Fe dari mukosa usus halus diteruskan melewati aliran darah menuju sumsum tulang untuk membentuk hemoglobin. Vitamin C berperan memelihara dan menjaga keutuhan membran eritrosit. Membran eritrosit mengandung asam lemak tidak jenuh, sehingga rentan terjadi peroksidasi lipid yang mengakibatkan sel di dalam membran lisis. Vitamin B12 dibutuhkan untuk pematangan eritrosit yang memiliki peran dalam proses metabolisme sel pada sumsum tulang. Sel eritrosit matang akan dilepaskan ke pembuluh darah, selanjutnya diedarkan ke seluruh tubuh. Vitamin B12 dapat mengubah folat menjadi bentuk aktif, sehingga fungsi fisiologi di dalam sel tetap berjalan. Kurangnya vitamin B12 dapat menyebabkan terjadinya gangguan dalam sintesis DNA, sehingga pembelahan sel menjadi terganggu. Asam folat berperan dalam pematangan akhir eritrosit, kekurangan asam folat dapat menyebabkan gagalnya pematangan inti dan pembelahan sel (Patria *et al.*, 2013).

Kadar eritrosit tikus putih yang normal dapat dipengaruhi oleh senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak biji fenugreek. Flavonoid memiliki mekanisme mempertahankan kadar eritrosit normal dengan cara menghambat peroksidasi lipid oleh H_2O_2 pada sumsum tulang. Peran penting flavonoid sebagai antioksidan, yaitu menghambat reaktivitas radikal bebas yang merusak struktur fungsi sel dan dapat mempertahankan sistem kekebalan tubuh (Pradeep & Srinivasan, 2018). Sudaryono (2011) menyatakan bahwa flavonoid merupakan senyawa aktif polifenol yang berperan sebagai antioksidan yang mampu meningkatkan eritropoiesis (proses pembentukan eritrosit) dalam sumsum tulang. Muhtadi *et al.* (2014) mengemukakan bahwa polifenol memiliki peran sebagai pendonor atom hidrogen (H^+) kepada radikal bebas yang tidak stabil menjadi radikal bebas stabil yang tidak merusak membran lipid pada sel darah. Polifenol melindungi membran sel akibat radikal, Sekha *et al.* (2014) dalam penelitiannya menemukan bahwa ekstrak biji fenugreek yang mengandung senyawa trigonelline, asam amino, dan carpine mampu memulihkan kembali kadar eritrosit yang rendah akibat penyakit anemia.

Analisis statistik ANOVA-satu arah yang dilakukan pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan juga memberikan pengaruh tidak nyata terhadap konsumsi minum tikus. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji fenugreek P1 dosis 500 mg/kg BB, P2 dosis 1.000 mg/kg BB (P2), dan P3 dosis 1.500 mg/kg BB konsumsi minum tikus dalam batas normal sehingga fungsi ginjal juga normal, tidak terjadi gangguan pada ginjal.

Hal ini dikarenakan ginjal berfungsi dalam filtrasi dan menjaga homeostatis cairan tubuh. Konsumsi minum tikus pada penelitian ini masih dalam kisaran normal, yaitu 21,57-25,35 mL. Yuliandra *et al.* (2015) menyatakan bahwa fungsi ginjal dalam keadaan normal apabila volume konsumsi air minum tikus dalam batas normal, sedangkan ginjal yang mengalami kerusakan apabila fungsi homeostatis terganggu ditandai tidak normalnya konsumsi minum tikus. Ginjal memiliki peran dalam menjaga homeostatis cairan tubuh, yaitu mengatur keseimbangan asam basa, osmolaritas cairan tubuh dan elektrolit, serta mengatur keseimbangan air dan elektrolit. Setiawan *et al.* (2020) menyatakan bahwa batas normal konsumsi minum tikus berkisar 15-30 ml air perhari.

Ekstrak biji fenugreek diberikan pada dosis 500 mg/kg BB, 1.000 mg/kg BB, dan 1.500 mg/kg BB diduga mampu menjaga struktur histologis ginjal melalui mekanisme melawan radikal bebas di ginjal. Berdasarkan hasil penelitian Mbarki *et al.* (2017) mengemukakan bahwa penyakit ginjal dapat dicegah dengan mengkonsumsi suplemen biji fenugreek. Efek kandungan fenol pada biji fenugreek memengaruhi pengurangan kadar urea, kreatinin serum, fibrosis, kerusakan tubular, dan penebalan membran basal glomerulus. Ekstrak fenugreek sangat efektif dan penting Sebagai sumber antioksidan alami yang mampu mencegah peroksidasi lipid pada ginjal. Gambaran mikroskopis glomerulus ginjal tikus jantan pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar histologis 1a (kelompok perlakuan kontrol/P0), tikus normal diberi aquades tampak korpus renalis dan tubulus ginjal dalam keadaan normal. Lumen pada tubulus terlihat dengan sel-sel inti yang masih utuh dan terlihat jelas. Glomerulus tampak normal, kapsula Bowman tersusun atas lapisan viseralis dan lapisan parietal, membentuk ruang Bowman. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Walean *et al.* (2018) menyatakan bahwa pada tikus kontrol dalam keadaan normal tubulus ginjal dan korpus renalis terlihat jelas. Kapiler-kapiler pada glomerulus serta ruang kapsular renalis tampak jelas. Tubulus memperlihatkan lumen dengan sel-sel dan inti yang jelas dan masih utuh.

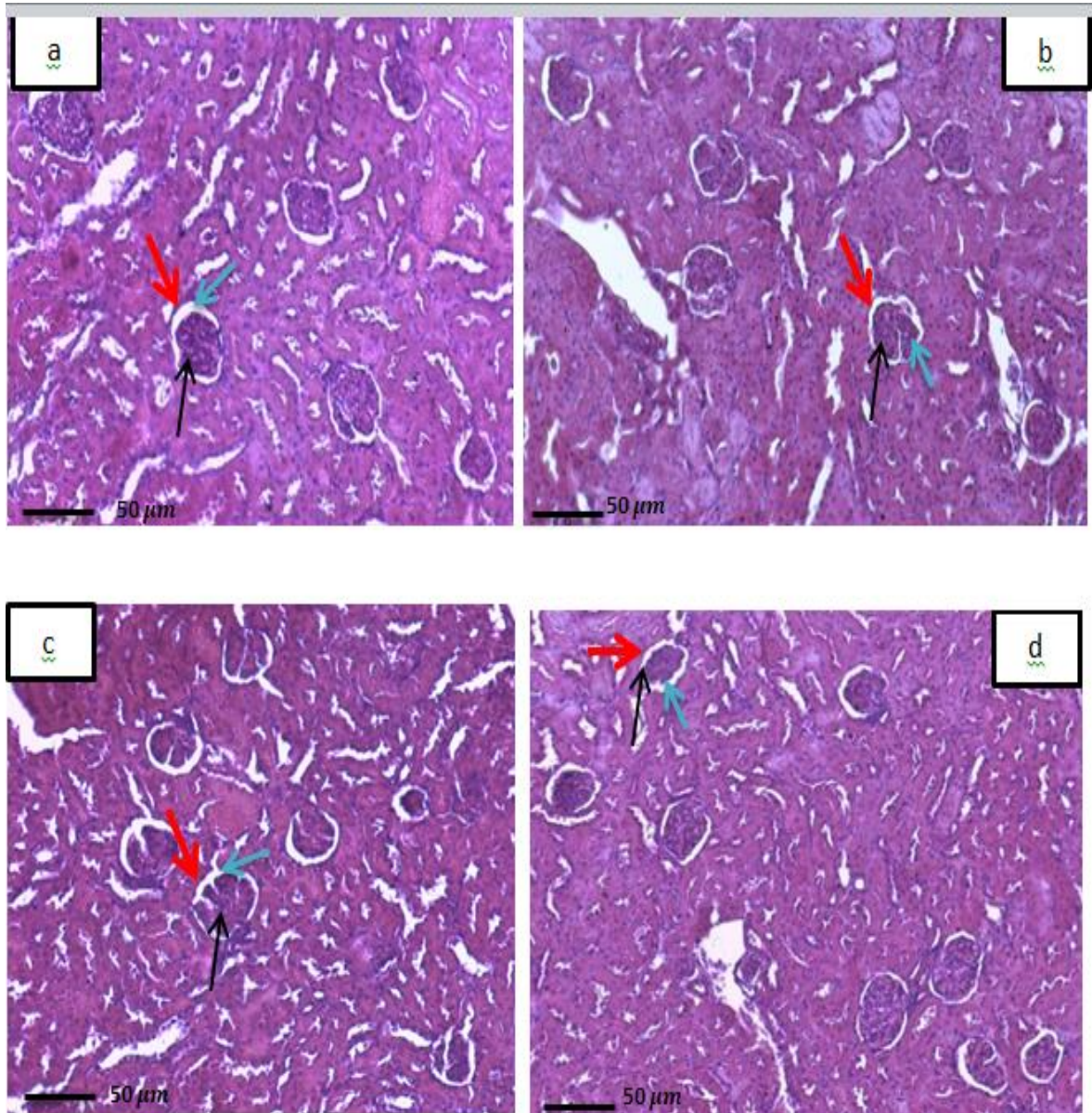
Gambar histologis 1b (kelompok perlakuan P1 tikus normal diberi ekstrak fenugreek dosis 500 mg/kg BB), terlihat diameter glomerulus dalam kondisi normal, lumen pada tubulus dengan sel-sel inti yang utuh dan jelas. Tebal kapsula Bowman tidak mengalami pembengkakan maupun penyempitan karena ukurannya terlihat hampir sama dengan perlakuan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak fenugreek dosis 500 mg/kg BB tidak berpengaruh negatif pada ginjal, hal ini diduga disebabkan kandungan antioksidan yang tinggi pada ekstrak biji fenugreek. Hal ini sesuai pendapat Konopelniuk *et al.* (2017) menunjukkan bahwa fenugreek memiliki kandungan antioksidan yang mampu memberikan perlindungan pada

ginjal, sehingga menjaga ginjal tetap berfungsi dengan baik, mengurangi stres oksidatif, menghambat peroksidasi lipid, dan mencegah kalsifikasi di jaringan ginjal. Noura *et al.* (2013) mengemukakan bahwa mekanisme flavonoid dalam melindungi ginjal, yaitu meningkatkan aktivitas antioksidan glutathione S-transferase (GSH), meningkatkan sintesis GSH, dan memerangkap secara langsung ROS dengan cara mendonorkan atom H dari gugus hidroksil (OH) ke senyawa radikal bebas, sehingga senyawa radikal bebas yang terbentuk tidak reaktif. Kandungan flavonoid pada ekstrak biji fenugreek memiliki aktivitas antioksidan dalam melindungi ginjal dari nefrotoksisitas, serta radikal bebas. Kumar & Pandey (2013) menyatakan bahwa mekanisme flavonoid melawan radikal bebas, yaitu dengan cara menekan pembentukan ROS, mengikat ROS, dan meningkatkan perlindungan pertahanan antioksidan. Flavonoid mengikat ROS dengan memberikan atom hidrogen dan elektronnya seperti superoksida, radikal hidroksil, peroksil, dan peroksinirit. Flavonoid menghambat pembentukan ROS dengan menekan aktivitas enzim superoksida dismutase yang terlibat dalam pembentukan ROS.

Gambar histologis 4.1c (kelompok perlakuan P2 tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 1000 mg/kg BB), terlihat ginjal dalam kondisi baik, lumen pada tubulus dengan inti sel yang jelas dan utuh. Diameter glomerulus dan kapsula Bowman memiliki ukuran sedikit lebih besar namun terlihat normal seperti kelompok perlakuan kontrol/ P0. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak fenugreek dengan dosis 1.000 mg/kg BB tidak menyebabkan kerusakan pada ginjal. Hal ini sesuai dengan pendapat Kapase *et al.* (2013) menyatakan bahwa kandungan alkaloid berupa trigonelin pada ekstrak fenugreek memiliki kemampuan dalam mengobati masalah ginjal, yaitu dengan cara melindungi ginjal serta meningkatkan fungsi ginjal pada penderita diabetes mellitus. Kandungan trigonelin ini berperan dalam memperbaiki gangguan fungsi ginjal (nefropati), menghambat stres oksidatif di ginjal, menurunkan apoptosis sel ginjal dan fibrosis.

Gambar histologis 1d (kelompok perlakuan P3, tikus normal diberi ekstrak biji fenugreek dosis 1500 mg/kg BB) menunjukkan gambaran ginjal dalam kondisi normal tidak ada kerusakan pada histologinya, terlihat glomerulus dan kapsula Bowman dalam ukuran normal mendekati hasil kelompok perlakuan kontrol (K0). Korpus renalis, tubulus, lumen pada tubulus dengan inti sel yang jelas dan utuh, tidak ada kerusakan yang terlihat dan struktur ginjal terjaga dengan baik. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak fenugreek dengan dosis 1500 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh negatif pada ginjal. Hal ini sesuai pendapat Uslu *et al.* (2019) mengemukakan bahwa kandungan polifenol, sapogenin, diosgenin, trigonelin, vitamin C, beta karoten, fosfat, asam folat, dan asam nikotinat pada ekstrak biji fenugreek memiliki

pengaruh mengurangi kerusakan pada ginjal yang disebabkan oleh pemberian bahan tambahan makanan sintesis yang mengandung NaNO_2 .



Gambar 1. Mikroanatomi ginjal tikus (pewarnaan H&E, perbesaran 100x), (a) Kelompok perlakuan Kontrol/P0, tikus normal diberi aquades, (b) Kelompok perlakuan (P1) tikus normal diberi ekstrak fenugreek dosis 500 mg/kg BB, (c) Kelompok perlakuan (P2), tikus normal diberi ekstrak fenugreek dosis 1000 mg/kg BB, (d) Kelompok perlakuan (P3), tikus normal diberi ekstrak fenugreek dosis 1500 mg/kg BB. Keterangan: Glomerulus ↗, Tebal kapsula Bowman ↗, Kapsula Bowman ↗.

4. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak biji fenugreek dengan dosis 500 mg/kg BB, 1000 mg/kg BB, dan 1500 mg/kg BB tidak mengubah struktur dan morfometri ren tikus putih, sehingga aman digunakan sebagai obat. Saran dari penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak etanol biji fenugreek pada hewan coba yang

memiliki penyakit degeneratif berupa kerusakan ginjal sehingga dapat diketahui dengan pasti pengaruh ekstrak biji fenugreek dalam memperbaiki struktur histologi ginjal.

Ucapan Terimakasih

Saya mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang membantu terlibat atas penyelesaian penelitian tugas akhir maupun draft skripsi ini, yaitu kepada: Prof. Drs. Sapto Purnomo, M.Si., Ph.D. selaku ketua Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang. Dr. Erma Prihastanti, M.Si. selaku dosen Wali yang senantiasa memberikan nasehat dan arahan selama menempuh perkuliahan di Departemen Biologi. Dr. Kasiyati, M.Si. selaku dosen Pembimbing I, Dr. Agung Janika Sitasiwi, M.Si. selaku dosen Pembimbing II, dan Dra. Siti Muflichatun Mardiati, M. Kes. selaku dosen Penguji yang telah membantu membimbing dan menyempurnakan skripsi ini menjadi layak.

Deklarasi Konflik Kepentingan

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

Daftar Pustaka

- Badr, I. M. (2017). Effect of Fenugreek Seeds on Kidney Structure and Some Physiological Parameters in Rats. *Middle East Journal of Applied Sciences*. 7(4): 967-973.
- Bektur, N. E., Sahin, E., Baycu, C., dan Unver, G. (2013). Protective Effects of Silymarin Against Acetaminophen Induced Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Mice. *Toxicology & Industrial Health*. 1(2): 1-12.
- Berata, I. K. (2018). Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi. *Seminar Nasional ROTHSCHILD*. <https://simdos.unud.ac.id/uploads/file>. Diakses online pada 5 Desember 2020.
- Chourasiya, A., Sahu, K.R., dan Khan, A. M. (2019). Anti-Anemic and Haemopoietic Evaluation of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) in Rodent Model. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 9(4):332-337.
- Darusman, S. H., Nugroho, W. S., Munggaran, A. F., dan Sajuthi, D. (2018). Teknik Penanganan Kendali Hewan Sesuai Kaidah Kesejahteraan Hewan Meningkatkan Akurasi Pengukuran Profil Hemodinamika Tikus Laboratorium. *Jurnal Veteriner*. 19(2): 208-214.
- Guyton, A.C., dan Hall, J.E. (2014). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 22*. Jakarta: EGC.
- Handayani, D., Mukhtar, M. H., dan Riyanti, E. (2017). Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Kalek Salusuah (*Tristania subauriculata*) terhadap Fungsi Ginjal Mencit Putih Jantan. *Jurnal Sains & Teknologi Farmasi*. 16(2):156-166.
- Hamadi, A. S. (2012). Effect of Trigonelline and Ethanol Extract of Iraqi Fenugreek Seeds on Oxidative Stress in Alloxan Diabetic Rabbits. *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences*. 12(1):23-26.
- Hoffbrand, A., dan Petit, J. E. (2013). *Kapita Selekta Hematologi*. Jakarta: EGC.
- Kapase, U. C., Bodhankar, L. S., Mohan, V., dan Thakurdesai, A. P. (2013). Therapeutic Effects of Standardized Fenugreek Seed Extract on Experimental Urolithiasis in Rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 3(9): 29-35.
- Konopelniuk, V.V., Goloborodko, L.L., Ishchuk, V.T., Synelnyk, B.T., Ostapchenko, I. L., Spivak, Y.M., dan Bubnov, V. R. (2017). Efficacy of Fenugreek Based Bionanocomposite on Renal Dysfunction and Endogenous Intoxication in High Calorie Diet Induced Obesity Rat Model Comparative Study. *EPMA Journal*. 8(4): 337-390.

- Kumar, S., dan Pandey, K. A. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*. 1(1):1-16.
- Mbarki, S., Alimi, H., Bouzenna, H., Elfeki, A., dan Hfaied, N. (2017). Phytochemical Study and Protective Effect of *Trigonella foenum Graceum* L. (Fenugreek Seeds) Against Carbon Tetrachloride Induced Toxicity in Liver and Kidney of Male Rat. *Journal Biomedicine & Pharmacotherapy*. 88: 19-26.
- Michael, B., Yanno, B., Sellers, R. S., Perry, R., Morton, D., Roome, N., Johnson, J. K. dan Schafer, K. (2007). Evaluation of Organ Weights for Rodent and Non-Rodent Toxicity Studies: A Review of Regulatory Guidelines and a Survey of Current Practices. *Journal Toxicologic Pathology*. 35(5): 742-750.
- Muhtadi, A., Andi, S., Tanti, A.S., dan Haryoto. (2014). Pengujian Daya Antioksidan dari Beberapa Ekstrak Kulit Buah Asli Indonesia dengan Metode FTC. *Simposium Nasional RAPI XIII*. ISSN 1412-9612.
- Nathiya, S., Durga, M., dan Devasena, T. (2014). Therapeutic role of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek). *International Journal Pharmacy*. 27(2): 74-80.
- Nouira, B. Y., Bakhta, H., Haouas, Z., Slim, F. I., dan Cheikh, B. H. (2013). Fenugreek Seeds Reduce Aluminium Toxicity Associated with Renal Failure in Rats. *Journal Nutrition Research and Practice*. 7(6):466-474.
- Patria, A. D., Praseno, K., dan Tana, S. (2013). Kadar Hemoglobin dan Jumlah Eritrosit Puyuh (*Coturnix coturnix japonica* Linn.) setelah Pemberian Larutan Kombinasi Mikromineral (Cu, Fe, Zn, Co) dan Vitamin (A, B1, B12, C) dalam Air Minum. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 21(1): 26-35.
- Pradeep, R. S., dan Srinivasan, K. (2018). Haematoprotective Influence of Dietary Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) Seeds is Potentiated by onion (*Allium cepa* L.) in Steptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal Biomedicine & Pharmacotherapy*. 98(1):372-381.
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. (2012). *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Sekha, S, M, Qadir, B, A., Ali, H, H., dan Selim, E, X. (2014). Effect of Fenugreek (*Trigonella foenum Graceum* L.) on Ethylene Glycol Induced Kidney Stone in Rats. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 7(4):257-260.
- Setiawan, R., Saraswati, R. T., dan Tana, S. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Lakum (*Cayratia trifolia* L.) dan Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Bobot Tubuh dan Bobot Lemak Abdominal *Rattus norvegicus* L. Strain Wistar Jantan Hiperlipidemia. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 5(1): 1-9.
- Suarsana, Wresdiyati, T., dan Suprayogi, A. (2013). Respon Stres Oksidatif dan Pemberian Isoflavon terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase dan Peroksidasi Lipid pada Hati Tikus. *JITV*. 18(2): 146-152.
- Sudaryono, A. (2011). Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Total dari *Gynura segetum* (Lour) terhadap Peningkatan Eritrosit dan Penurunan Leukosit pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Exacta*. 9(2).
- Uslu, Atila. G., Uslu, Hamit., Adali, Yasemen. (2019). Hepatoprotective and Nephroprotective Effects of *Trigonella foenum graecum* L. (Fenugreek) Seed Extract Against Sodium Nitrite Toxicity in Rats. *Journal Biomedical Research and Therapy*. 6(5): 3142-3150.
- Vargas, F., Romecin, P., Guillen, G. I., Wangesteen, R., Tendero, V. P., Paredes, D. M., Atucha, M. N., dan Estan, G. J. (2018). Flavonoids in Kidney Health and Disease. *Journal Frontiers in Physiology*. 9(1): 1-12.
- Walean, M., Rumondor, R., Maliangkay, P. H., dan Melpin, R. (2018). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba (*Syzygium* sp.) terhadap Gambaran Hispatologi Ginjal Tikus yang Dinduksi Etilen Glikol. *Journal Chem. Prog*. 1(11): 20-34.

- Widyaningsih, A., Sitaswi, J. A., dan Mardiaty, M. S. (2018). Respon Glomerulus Ren Mencit (*Mus musculus* L.) terhadap Pemberian Senyawa Antifertilitas dari Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 3(2): 233-241.
- Windhartono, W., Kamal, Z., Sasmito, E. (2013). Pengaruh Infusa Wortel (*Daucus carota* L.) terhadap Histopatologi Ginjal Tikus Jantan yang Diinduksi Uranium. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 21(1): 33-40.
- Yanuartono, Purnamaningsih, H., Nururrozi, A., Indarjulianto, S., dan Raharjo, S. (2019). Recombinant Human Erythropoietin: Manfaat dalam Bidang Kesehatan. *Jurnal Sains Veteriner*. 37(1): 49-60.
- Yuliandra, Y., Armenia, N., Salasa, N. A., dan Ismed, F. (2015). Uji Toksisitas Subkronis Ekstrak Etanol Tali Putri (*Cassytha filiformis* L.) terhadap Fungsi Ginjal Tikus. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 2(1): 54-59.
- Zelditch, M., Swiderski, D., dan Sheets, H. (2012). *Geometric Morphometrics for Biologists*. USA: Academic Press.
- Zhou, C., Qin, Y., Chen, R., Zhang, J., dan Lu, F. (2020). Fenugreek Attenuates Obesity-induced Inflammation and Improves Insulin Resistance through Downregulation of Irhom2/TACE. *Journal Life Sciences*. 1(1):1-9.



© 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International (CC BY-SA 4.0) license (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>).