

ARTIKEL PENELITIAN

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL MENCIT (*Mus musculus*) GALUR DDY
PADA UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SALAM
(*Syzygium polyanthum*)
(THE KIDNEY HISTOPATHOLOGY OF DDY MICE (*Mus musculus*) ON
ACUTE TOXICITY TEST OF BAY LEAF (*Syzygium polyanthum*) ETHANOL EXTRACT**

**Ris Kristiana¹, Nurul Aida Fathya², Endah Hamidah Abbas¹, Henny Juliastuti³,
Desy Linasari⁴, Rika Rachmawati⁵**

¹Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

²Bagian Forensik dan Medikolegal, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

⁴Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

⁵Bagian Kedokteran Komunitas, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

⁶Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

E-mail korespondensi: kristiana1980@gmail.com

ABSTRAK

Penggunaan obat-obatan yang berasal dari bahan alam, tetap dibutuhkan suatu uji untuk mengetahui tingkat keamanannya. Tingkat keamanan zat tertentu dapat diamati dari efek toksik yang ditimbulkan pada berbagai organ, salah satunya pada ginjal yang berperan penting dalam sistem ekskresi melalui uji praklinik. Daun salam (*Syzygium polyanthum*) merupakan salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya perubahan histopatologi ginjal mencit jantan dan betina pada pemberian akut ekstrak etanol daun salam (EEDS). Penelitian ini merupakan penelitian observasional mengenai histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) putih jantan dan betina galur DDY. Sediaan berjumlah 48 buah, yang terbagi menjadi empat kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (K), kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol daun salam dosis 1250 mg/kgBB (P1), dosis 2500 mg/kgBB (P2), dan dosis 5000 mg/kgBB (P3). Sampel organ ginjal dibuat preparat histopatologi dengan metode pewarnaan HE, lalu dilakukan pemeriksaan histopatologi. Gambaran histopatologi yang diamati berupa inflamasi, degenerasi lemak, dan nekrosis pada ginjal serta data dianalisis dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam dosis 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB pada mencit jantan dan betina tidak mengakibatkan perubahan

bermakna terhadap gambaran histopatologi ginjal. Efek toksik dapat timbul apabila suatu zat telah mencapai organ target dengan konsentrasi cukup tinggi dan waktu yang cukup untuk menimbulkan efek tersebut. Walaupun menunjukkan tidak adanya toksisitas, namun tetap dibutuhkan uji klinis lebih lanjut untuk mengkonfirmasi keamanan daun salam sebagai fitofarmaka.

Kata kunci: daun salam, histopatologi ginjal, uji toksisitas akut

ABSTRACT

The use of drugs derived from natural products still needed a test to determine the level of safety. The safety level of certain substances can be observed from the toxic effects that are inflicted on various organs, one of which is the kidneys which plays an important role in the excretory system through preclinical tests. Bay leaf is one of the medicinal plants that is often used by Indonesian people. This study aims to determine the histopathological changes in the kidneys of male and female mice in the acute administration of EEDS. This research is an observational study on the kidney histopathology of white male and female DDY mice. There were 48 preparations, divided into 4 groups, namely the negative control group, the treatment group with dose of EEDS 1250 mg/kgBW, 2500 mg/kgBW, and 5000 mg/kgBW. Kidney samples were made histopathology preparations with the HE staining method, then histopathological examination was performed. The histopathological features observed were inflammation, fatty degeneration, and necrosis of the kidneys and data were analyzed using Kruskal-Wallis test. The results of this study showed that the administration of EEDS at doses of 1250 mg/kgBW, 2500 mg/kgBW, and 5000 mg/kgBW in male and female mice did not result in significant changes in the histopathological features of the kidneys. Toxic effects can appear when a substance has reached the target organ with high concentration and sufficient time to cause that effect. Although it indicates no toxicity, further clinical studies are needed to confirm the safety of bay leaf as phytopharmaca.

Keywords: acute toxicity test, bay leaf, kidney histopathology

PENDAHULUAN

Beberapa dekade terakhir, terjadi peningkatan penggunaan obat tradisional, baik di negara berkembang maupun di negara maju. Data menunjukkan sekitar 60-80% masyarakat di berbagai negara masih memanfaatkan obat tradisional sebagai prioritas utama pengobatan, termasuk di Asia Tenggara. Sekitar 30.000 dari 40.000 jenis tumbuhan obat di dunia terdapat di Indonesia. Dari total tersebut, kira-kira 25% atau 7.500 jenis telah diketahui mempunyai khasiat herbal atau tanaman obat.^{1,2} Dari

ribuan jenis spesies tanaman obat, salah satunya yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia adalah *Syzygium polyanthum* atau yang lebih dikenal sebagai daun salam. Daun salam umumnya digunakan sebagai penyedap masakan dan dimanfaatkan pula oleh masyarakat sebagai pengobatan, seperti untuk diabetes melitus, hipertensi, serta dapat membantu menurunkan kadar kolesterol. Kandungan senyawa yang terdapat pada daun salam antara lain tanin, minyak atsiri, flavonoid, steroid, saponin, fenolik, dan alkaloid, serta

mengandung pula berbagai vitamin.^{3,4,5} Di antara kandungan senyawa tersebut, flavonoid termasuk senyawa utama pada daun salam, yang salah satu sifatnya sebagai antioksidan yang merupakan efek paling penting yang dapat menetralkan radikal bebas.^{4,6-8} Tubuh dapat pula memproduksi antioksidan endogen untuk menetralkan radikal bebas. Apabila kadar dari radikal bebas cukup tinggi, maka antioksidan endogen tidak dapat menetralkan radikal bebas tersebut sehingga dapat terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, yang disebut sebagai stres oksidatif.^{9,10} Antioksidan dapat pula menunjukkan aktivitas prooksidan. Dalam kondisi tertentu, seperti konsentrasi antioksidan yang tinggi dan adanya logam transisi (terutama Fe dan Cu), antioksidan dapat menunjukkan aktivitas prooksidan yang dapat menimbulkan terjadinya stres oksidatif.⁸

Penggunaan obat-obatan yang berasal dari bahan alam, bilamana digunakan secara berlebihan bukan berarti tidak akan menimbulkan bahaya. Bahaya dari paparan suatu zat dapat diketahui dari dosis yang mengakibatkan efek toksik pada manusia, oleh karena itu dibutuhkan suatu uji untuk mendeteksi efek toksik tersebut, salah satunya yaitu uji praklinik pada hewan uji untuk mengetahui tingkat keamanan serta kebenaran khasiat dari suatu zat dengan

melakukan uji toksisitas.^{11,12} Efek toksik dari suatu zat bisa dilihat dari beberapa organ, salah satunya ialah ginjal yang berperan penting dalam sistem ekskresi. Salah satu fungsi ginjal ialah mengekskresikan sebagian besar toksin, obat, serta zat kimia lainnya.^{13,14} Perubahan histopatologi yang dapat terjadi pada ginjal yaitu berupa inflamasi, degenerasi, dan nekrosis.¹⁰ Perubahan histopatologi ini dapat berkaitan dengan kejadian stres oksidatif.¹⁵

Penelitian ini lanjutan dari dua penelitian sebelumnya. Penelitian yang pertama mengenai uji toksisitas akut ekstrak etanol daun salam (EEDS) dengan pemberian dosis 1250 mg/kgBB, 2500 mg/kgBB, dan 5000 mg/kgBB didapatkan bahwa daun salam termasuk praktis tidak toksik berdasarkan klasifikasi dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tahun 2014.¹⁶ Sementara itu, penelitian yang kedua mengenai efek EEDS terhadap hepar mencit pada uji toksisitas akut didapatkan bahwa terjadi perubahan histopatologi hepar dan pemberian akut EEDS dosis bertingkat memiliki efek toksik akibat aktivitas prooksidan dan peningkatan stres oksidatif pada pemberian antioksidan dosis tinggi.¹⁷ Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek toksik EEDS dosis 1250 mg/kgBB, dosis 2500 mg/kgBB, dan dosis 5000 mg/kgBB terhadap gambaran

dan adanya perubahan histopatologi ginjal mencit jantan dan betina.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani pada bulan Januari sampai Februari 2022.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional dengan melakukan pengamatan dan mendokumentasikan efek toksik ekstrak etanol daun salam terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) putih jantan dan betina galur DDY.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi adalah larutan bufer formalin 10%, alkohol bertingkat, larutan *Xylol*, parafin, akuades, dan pewarna Hematoksin-Eosin (HE).

Objek Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 48 buah organ ginjal mencit (*Mus musculus*) putih jantan dan betina galur DDY sebagai sampel yang didapat dari penelitian sebelumnya, yang dibagi menjadi empat kelompok, terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif (K) dan 3 kelompok perlakuan yang diberikan EEDS dosis 1250 mg/kgBB (P1), dosis 2500 mg/kgBB (P2), dan dosis 5000

mg/kgBB (P3) untuk diamati secara histopatologi.

Histopatologi

Pembacaan preparat histopatologi dilakukan di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dalam lima lapang pandang, kemudian melakukan rerata dari lima lapang pandang tersebut. Metode yang digunakan saat pembacaan preparat ialah metode semikuantitatif *eyeballing* dengan menggunakan indra penglihatan peneliti untuk melihat sel dan diperkirakan daerah kerusakannya.

Cara Pengukuran

Derajat peradangan ginjal dinilai menggunakan sistem skoring, yaitu: Skor 1 = infiltrasi sel radang bersifat fokal (ringan), Skor 2 = infiltrasi sel radang bersifat multifokal (sedang), Skor 3 = infiltrasi sel radang bersifat difusa (berat).¹⁸ Sementara itu, persentase kerusakan sel (degenerasi dan nekrosis) dinilai dengan menggunakan kriteria Venient *et al*, yaitu: Skor 1 = lesi kurang dari 25% total lapang pandang, Skor 2 = lesi 25% sampai dengan kurang dari 50% total lapang pandang, Skor 3 = lesi 50% sampai dengan kurang dari 75% total lapang pandang, Skor 4 = lesi lebih dari sama dengan 75% total lapang pandang.^{19,20}

Analisis Statistik

Data hasil pembacaan preparat histopatologi yang didapatkan setelah melakukan penelitian diolah dalam

program SPSS dengan dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Jantan

Gambaran histopatologi yang ditemukan pada ginjal mencit jantan, yaitu berupa inflamasi, degenerasi lemak, dan nekrosis. Inflamasi dinilai dengan menggunakan skor derajat peradangan ginjal, sedangkan degenerasi lemak dan nekrosis dinilai menggunakan kriteria Venient *et al*. Pengamatan dilakukan dalam

lima lapang pandang, kemudian melakukan rerata dari lima lapang pandang tersebut, sehingga didapatkan skor rerata pada setiap kelompok perlakuan. Skor hasil pembacaan pada masing-masing kelompok mencit jantan disajikan pada Tabel 1.

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok P2 memiliki skor rerata inflamasi tertinggi pada ginjal mencit jantan yaitu sebesar 1,500. Sedangkan kelompok kontrol negatif, kelompok P1, dan kelompok P3 memiliki skor rerata inflamasi terendah yaitu masing-masing sebesar 1,000.

Tabel 1 Skor hasil pembacaan inflamasi, degenerasi lemak, dan nekrosis mencit jantan

Kelompok	Skor Rerata		
	Inflamasi	Degenerasi Lemak	Nekrosis
Kontrol Negatif	1,000	0,033	1,000
P1 (EEDS dosis 1250 mg/kgBB)	1,000	0,000	0,967
P2 (EEDS dosis 2500 mg/kgBB)	1,500	0,033	1,000
P3 (EEDS dosis 5000 mg/kgBB)	1,000	0,000	1,000
Ket : EEDS (Ekstrak etanol Daun salam)			

Selanjutnya, kelompok kontrol negatif dan kelompok P2 mempunyai skor rerata degenerasi lemak tertinggi pada ginjal mencit jantan yaitu masing-masing sebesar 0,033, serta kelompok P1 dan kelompok P3 mempunyai skor rerata degenerasi lemak terendah yaitu masing-masing sebesar 0,000.

Kemudian, kelompok kontrol negatif, kelompok P2, dan kelompok P3 memiliki

skor rerata nekrosis tertinggi pada ginjal mencit jantan yaitu masing-masing sebesar 1,000. Sementara itu, kelompok P1 memiliki skor rerata nekrosis terendah yaitu sebesar 0,967. Gambaran histopatologi inflamasi, degenerasi lemak, dan nekrosis pada ginjal dapat dilihat pada Gambar 1.

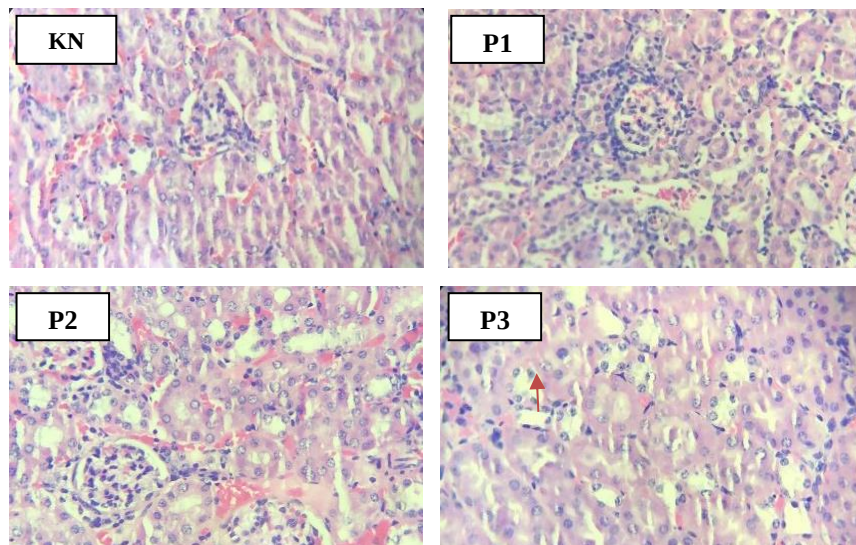
Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit Betina

Gambaran histopatologi ginjal mencit betina yang ditemukan pada kelompok perlakuan, yaitu berupa inflamasi dan nekrosis. Skor hasil pembacaan pada masing-masing kelompok mencit betina disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa kelompok P1 memiliki skor rerata inflamasi tertinggi pada ginjal mencit betina yaitu sebesar 1,167 sedangkan kelompok kontrol negatif, kelompok P2, dan kelompok P3

memiliki skor rerata inflamasi terendah yaitu masing-masing sebesar 1,000.

Selanjutnya, kelompok kontrol negatif mempunyai skor rerata degenerasi lemak tertinggi pada ginjal mencit betina yaitu sebesar 0,033. Sementara itu, kelompok P1, kelompok P2, dan kelompok P3 mempunyai skor rerata degenerasi lemak terendah yaitu masing-masing sebesar 0,000.



Gambar 1 Gambaran histopatologi ginjal mencit.

KN : Kontrol Negatif, P1: Perlakuan 1, P2 : Perlakuan 2, P3 : perlakuan 3. Pada KN, P1 dan P2 menunjukkan gambaran inflamasi pada parenkim ginjal yang ditandai dengan infiltrasi sel-sel radang limfosit disertai proliferasi pembuluh darah. Pada P3 terdapat sel-sel epitel yang nekrosis (panah).

Kemudian, kelompok P3 memiliki skor rerata nekrosis tertinggi pada ginjal mencit betina yaitu sebesar 1,033. Sedangkan kelompok kontrol negatif, kelompok P1,

dan kelompok P2 memiliki skor rerata nekrosis terendah yaitu masing-masing sebesar 1,000.

Tabel 2 Skor hasil pembacaan inflamasi, degenerasi lemak, dan nekrosis mencit betina

Kelompok	Skor Rerata		
	Inflamasi	Degenerasi Lemak	Nekrosis
Kontrol Negatif	1,000	0,033	1,000
P1 (EEDS dosis 1250 mg/kgBB)	1,167	0,000	1,000
P2 (EEDS dosis 2500 mg/kgBB)	1,000	0,000	1,000
P3 (EEDS dosis 5000 mg/kgBB)	1,000	0,000	1,033
EEDS : ekstrak etanol daun salam			

Gambaran Perubahan Histopatologi Ginjal Mencit Jantan

Untuk menentukan adanya gambaran perubahan histopatologi yang bermakna antar kelompok, perlu dilakukan uji analisis statistik.

Efektivitas Setiap Perlakuan Terhadap Inflamasi, Degenerasi Lemak, Nekrosis

Selaajutnya dilakukan analisis dengan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Hasil Uji *Kruskal Wallis*

Kelompok	Rerata± SD	Kruskal Wallis	Nilai p
inflamasi ginjal			
Kontrol Negatif	1,000 ± 0,000	6,261	0,100
Dosis 1250 mg/kgBB	1,000 ± 1,000		
Dosis 2500 mg/kgBB	1,500 ± 0,837		
Dosis 5000 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		
Degenerasi Lemak			
Kontrol Negatif	0,033 ± 0,082	2,091	0,554
Dosis 1250 mg/kgBB	0,000 ± 0,000		
Dosis 2500 mg/kgBB	0,033 ± 0,082		
Dosis 5000 mg/kgBB	0,000 ± 0,000		
Nekrosis			
Kontrol Negatif	1,000 ± 0,000	3,000	0,392
Dosis 1250 mg/kgBB	0,967 ± 0,082		
Dosis 2500 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		
Dosis 5000 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		

Berdasar pada hasil uji *Kruskal Wallis* pada Tabel 3 diperoleh nilai p sebesar 0,100 pada komponen inflamasi, 0,554 pada degenerasi lemak, 0,392 pada nekrosis. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat

perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Oleh sebab itu tidak perlu dilakukan uji lanjut untuk melihat kelompok yang memiliki perbedaan bermakna.

Dari hasil di atas, menunjukkan bahwa efektivitas setiap perlakuan tidak mengakibatkan perubahan bermakna terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit jantan. Merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Sumiwi *et al* (2018) mengenai uji toksisitas subkronis ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada tikus Wistar hingga pemberian dosis 1000 mg/kgBB tidak mengakibatkan

perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus jantan.²¹

Gambaran Perubahan Histopatologi Ginjal Mencit Betina
Efektivitas Setiap Perlakuan Terhadap Inflamasi

Analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil Uji *Kruskal Wallis* inflamasi ginjal

Kelompok	Mean ± SD	Kruskal Wallis	Nilai p
Kontrol Negatif	1,000 ± 0,000	3,000	0,392
Dosis 1250 mg/kgBB	1,167 ± 0,408		
Dosis 2500 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		
Dosis 5000 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		
Degenerasi Lemak			
Kontrol Negatif	0,033 ± 0,082	3,000	0,392
Dosis 1250 mg/kgBB	0,000 ± 0,000		
Dosis 2500 mg/kgBB	0,000 ± 0,000		
Dosis 5000 mg/kgBB	0,000 ± 0,000		
Nekrosis			
Kelompok	Mean ± SD	Kruskal Wallis	Nilai p
Kontrol Negatif	1,000 ± 0,000	3,000	0,392
Dosis 1250 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		
Dosis 2500 mg/kgBB	1,000 ± 0,000		
Dosis 5000 mg/kgBB	1,033 ± 0,082		

Hasil uji *Kruskal Wallis* pada Tabel 4 dari komponen inflamasi, degenerasi lemak kelompok untuk melihat kelompok yang memiliki perbedaan bermakna.

Berdasarkan hasil di atas, menunjukkan bahwa efektivitas setiap perlakuan tidak mengakibatkan perubahan bermakna terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit betina. Berdasar pada penelitian Sumiwi *et al* (2018) tentang uji toksisitas

subkronis ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada tikus Wistar hingga pemberian dosis 1000 mg/kgBB tidak mengakibatkan perubahan gambaran histopatologi ginjal tikus betina.²¹

Penelitian ini dilakukan pada mencit jantan dan betina. Perbedaan di antara kedua jenis kelamin tersebut ialah pada mencit jantan tidak memiliki hormon estrogen, walaupun ada jumlahnya relatif

sedikit.²² Dalam beberapa penelitian disebutkan bahwa hormon estrogen dapat memberikan efek protektif pada ginjal.^{23,24} Hasil dari suatu penelitian menunjukkan bahwa perubahan pada siklus hormon dapat memengaruhi homeostasis sel ginjal, sehingga berpotensi meningkatkan resistensi terhadap kerusakan ginjal.²³ Hasil pada penelitian ini menunjukkan baik pada ginjal mencit jantan maupun mencit betina, tidak mengakibatkan perubahan bermakna terhadap gambaran histopatologi ginjal.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa pada uji toksisitas akut ekstrak etanol daun salam pada mencit jantan terdapat gambaran histopatologi berupa inflamasi, degenerasi lemak, dan nekrosis, sedangkan pada mencit betina terdapat gambaran histopatologi berupa inflamasi dan nekrosis. Pemberian ekstrak etanol daun salam pada mencit jantan dan betina tidak mengakibatkan perubahan bermakna terhadap gambaran histopatologi ginjal.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam artikel ilmiah yang kami tulis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada profesional yang telah membantu penelitian dan penyusunan naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Munadi E, Nugroho RA, Ningsih EA, Paryadi D. Info komoditi tanaman obat. Dalam: Salim Z, Munadi E, editors. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan, Kementerian Perdagangan Republik Indonesia, 2017.
2. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/MENKES/187/2017 Tentang Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia. Menkes RI. Jakarta. 2017.
3. Redaksi AgroMedia. Buku pintar tanaman obat. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2008: 212-3.
4. Harismah K, Chusniatun. Pemanfaatan daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai obat herbal dan rempah penyedap makanan. Warta LPM, 2016; 19(2): 110-8. Available from: <https://doi.org/10.23917/warta.v19i2.2742>
5. Nurcahyati E. Khasiat dahsyat daun salam. Jakarta: Jendela Sehat, 2014: 71-113
6. Silalahi M. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (botani, metabolit sekunder dan pemanfaatan). Jurnal

- Dinamika Pendidikan, 2017; 10(1): 1-16.
7. Hasanah N. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun salam. Jurnal Pena Medika, 2015; 5(1): 55-9.
8. Procházková D, Boušová I, Wilhelmová N. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. Fitoterapia, 2011; 82(4): 513-23. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.01.018>
9. Adwas AA, Elsayed AS, Azab AE, Quwaydir FA. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. J Appl Biotechnol Bioeng, 2019; 6(1): 43-7. Available from: <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>
10. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Buku Ajar Patologi Robbins. Dalam: Nasar IM, Cornain S, editors. Ed.9. Singapore: Elsevier Saunders, 2015: 5-31
11. Rahayu M, Solihat MF. Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Toksikologi Klinik. Jakarta: BPPSDMK Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018: 72-79
12. Halim FX, Sampurno OD, Widowati L, Setiawaty V. Konsep dasar uji klinik. Dalam: Tjitra E, editor. Bunga Rampai Uji Klinik. Jakarta: Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2019: 7-14.
13. Hall JE. Buku ajar fisiologi kedokteran. Dalam: Widjajakusumah MD, Tanzil A, editors. Ed. Revisi Berwarna ke-12. Singapore: Elsevier, 2016: 299-338.
14. Tortora GJ, Derrickson B. Principles of anatomy and physiology. 14th ed. Hoboken: John Wiley and Sons, Inc., 2014: 979-85.
15. Kurniawidjaja LM, Lestari F, Tejamaya M, Ramdhan DH. Konsep dasar toksikologi industri. Ed. 1. Depok: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Indonesia, 2021: 106-17.
16. Djamaludin M, Kristiana R, Permana BY. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) pada mencit galur DDY (*Mus musculus*). Medika Kartika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan, 2021; 4(4): 355-68. Available from: <https://doi.org/10.35990/mk.v4n4.p355-368>
17. Kristiana R, Pradini A, Kusumaningsih MI. Efek ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap hepar mencit (*Mus musculus*) galur DDY pada uji toksisitas akut. Medika Kartika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan, 2021; 4(5): 493-506. Available from:

- <https://doi.org/10.35990/mk.v4n5.p493-506>
18. Darmayanti MD, Samsuri, Setiasih NL, Berata IK. Perubahan histopatologi ginjal tikus putih setelah 21 hari mengkonsumsi ragi tape. Indonesia Medicus Veterinus, 2020; 9(6): 889-99.
19. Putra IM. Pengaruh pemberian formalin peroral selama 2 minggu pada gambaran histopatologi ginjal dan hepar tikus galur Wistar. Cimahi: Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani; 2020.
20. Adiatma MA, Indriawati R. Effects of prenatal hypoxic-ischemic on renal histopathological image of *Rattus Norvergicus Sprague-dawley* strain. 2016; 1–13.
21. Sumiwi SA, Zuhrotun A, Hendriani R, Rizal M, Levita J, Megantara S. Subchronic toxicity of ethanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. leaves on Wistar rat. The Indonesian Biomedical Journal, 2019; 11(1): 30-5. Available from: <https://doi.org/10.18585/inabj.v11i1.458>
22. Yusuf M, Al-Gizar MR, Rorrong YY, Badaring DR, Aswanti H, Ayu SM, *et al.* Teknik manajemen dan pengelolaan hewan percobaan. Dalam: Mu'nisa A, Jumadi O, Junda M, Caronge MW, Hamjaya H. T, editors. Makassar: Jurusan Biologi FMIPA UNM, 2022: 1-2.
23. Seppi T, Prajczar S, Dörler MM, Eiter O, Hekl D, Nevinny-Stickel M, *et al.* Sex differences in renal proximal tubular cell homeostasis. Journal of the American Society of Nephrology, 2016; 27(10): 3051-62. Available from: <https://doi.org/10.1681/ASN.2015080886>
24. Garovic VD, August P. Sex differences and renal protection: keeping in touch with your feminine side. Journal of the American Society of Nephrology, 2016; 27(10): 2921-24. Available from: <https://doi.org/10.1681/ASN.2016040454>