

**PENGARUH EKSTRAK RAMUAN ANTIDIABETES DARI LOMBOK
TERHADAP KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM TIKUS
MODEL DIABETES**

PUBLIKASI ILMIAH

**Diajukan Sebagai Syarat Meraih Gelar Sarjana pada Fakultas Kedokteran
Universitas Mataram**



Oleh:

Galan Armadani

H1A014027

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM**

2018

**PENGARUH EKSTRAK RAMUAN ANTIDIABETES DARI LOMBOK
TERHADAP KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM TIKUS
MODEL DIABETES**

Galan Armadani, Nurhidayati, Ardiana Ekawanti

Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

e-mail: armadanigalan@gmail.com

Diajukan sebagai syarat meraih gelar Sarjana pada Fakultas Kedokteran
Universitas Mataram

Jumlah tabel : 3

Jumlah gambar : -

PENGARUH EKSTRAK RAMUAN ANTIDIABETES DARI LOMBOK TERHADAP KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM TIKUS MODEL DIABETES

Galan Armadani¹, Nurhidayati¹, Ardiana Ekawanti

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia

ABSTRAK

Latar Belakang: Ramuan dari Lombok yang terdiri dari lima tanaman yang secara empiris dapat menurunkan kadar gula darah, namun belum ada data yang menunjukkan dampaknya kepada ginjal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus diabetik.

Metode: Penelitian laboratoris ini menggunakan 16 ekor tikus (*Rattus norvegicus L.*) jantan galur wistar yang telah diinduksi nikotinamid dan *streptozotocin*. Materi penelitian dibagi menjadi 4 perlakuan yang masing-masing terdiri dari 4 ulangan, yaitu perlakuan satu (P1) diberikan ramuan dengan dosis 73,4mg/200grBB selama 7 hari. Kelompok perlakuan dua (P2) diberikan ramuan selama 14 hari. Kelompok kontrol satu (K1) diberikan aquades selama 7 hari, kelompok kontrol dua (K2) diberikan aquades selama 14 hari. Sampel darah diambil secara intrakardiak pada hari ke-7 untuk P1 dan K1, dan pada hari ke-14 untuk P2 dan K2 dan dilanjutkan dengan pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin serum. Analisis data dilakukan dengan uji *Mann-Whitney*.

Hasil: Rerata kadar ureum serum adalah 46,25±12,90 mg/dL (P1), 60,50±20,70 mg/dL (P2), 52,75±18,32 mg/dL (K1), 42,00±13,30 mg/dL (K2). Rerata kadar kreatinin serum adalah 0,55±0,58 mg/dL (P1), 0,53±0,05 mg/dL (P2), 0,55±0,58 mg/dL (K1), 0,48±0,05 mg/dL (K2). Median kadar ureum serum adalah 52 mg/dL (P1), 56 mg/dL (P2), 50,5 mg/dL (K1), 38,5 mg/dL (K2). Median kadar kreatinin serum adalah 0,55 mg/dL (P1), 0,50 mg/dL (P2), 0,55 mg/dL (K1), 0,50 mg/dL (K2). Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar ureum dan kreatinin antar perlakuan ($P>0,05$).

Kesimpulan: Lama pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok tidak berpengaruh terhadap kadar ureum dan kreatinin serum.

Kata Kunci: diabetes melitus, ureum, kreatinin, ramuan kencing manis dari Lombok.

THE EFFECT OF ANTIDIABETIC HERB FROM LOMBOK ON SERUM UREA AND CREATININE LEVELS IN DIABETIC RAT MODELS

Galan Armadani¹, Nurhidayati¹, Ardiana Ekawanti¹

¹Faculty of Medicine, Mataram University, Mataram, Indonesia

ABSTRACT

Background: Remedy from Lombok for DM that consist of five plants that empirically can lower blood glucose level, but there are no data that can show the effects to the kidney function. The aim of this study was to examine the effect of administration length of ethanol extract of traditional antidiabetic herb from Lombok on serum urea and creatinine level in diabetic rats.

Method: This laboratory experiment was conducted using 16 male Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*) induced with streptozotocin and nicotinamide as the replication units. The rats were divided into 4 treatment groups each with 4 replicates. P1 group were given the ethanol extract with the dosage of 73.4 mg/200grBW for 7 days. P2 group were given the ethanol extract for 14 days. The K1 and K2 groups were the diabetic control groups which were given distilled water peroral. Blood samples were collected from the intracardium. The obtained data were analyzed using Mann-Whitney test.

Result: The mean serum urea levels were 46.25±12,90 mg/dL (P1), 60.50±20.70 mg/dL (P2 group), 52.75±18.32 mg/dL (K1 group), 42.00±13.30 mg/dL (K2). Mean serum creatinine levels were 0.55±0.58 mg/dL (P1), 0.53±0.05 mg/dL (P2 group), 0.55±0.58 mg/dL (K1), 0.48±0,05 mg/dL (K2). Median serum levels were 52 mg/dL (P1), 56 mg/dL (P2), 50.5 mg/dL (K1), 38.5 mg/dL (K2). Median serum creatinine levels were 0.55 mg/dL (P1), 0.50 mg/dL (P2), 0.55 mg/dL (K1), 0.50 mg/dL (K2). Mann-Whitney test shows that there are no significant differences in urea and creatinine levels between treatments (P>0.05).

Conclusion: There were no significant effects of administration length of ethanol extract of traditional antidiabetic herb from Lombok on serum urea and creatinine levels in diabetic rats.

Keywords: diabetes mellitus (DM), urea, creatinine, traditional antidiabetic herb from Lombok.

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein kronis. Gambaran khas DM meliputi insufisiensi relatif maupun absolut hormon insulin dan keadaan hiperglikemia.¹

DM diklasifikasikan menjadi empat berdasarkan etiologi. Klasifikasi pertama yaitu DM tipe 1 yang diakibatkan karena adanya kerusakan sel β pankreas sehingga mengakibatkan defisiensi insulin absolut atau yang disebut dengan DM tergantung insulin, yang kedua adalah DM tipe 2 akibat defek sekresi insulin akibat adanya resistensi insulin atau DM tak tergantung insulin. Klasifikasi ketiga yaitu DM gestasional, terdiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan, dan DM spesifik yang diakibatkan penyebab lain misalnya DM neonatal, DM diinduksi obat, dan fibrokistik.²

Prevalensi DM meningkat secara drastis di seluruh dunia. Diperkirakan pada tahun 2030 jumlah penderita DM menjadi dua kali lipat, dari jumlah pada tahun 2000 yaitu 177 juta orang menjadi 370 juta orang.³

Penatalaksanaan yang dilakukan selama ini untuk DM tipe 1 adalah dengan pemberian insulin analog, sedangkan untuk DM tipe 2 dengan obat yang meningkatkan sensitivitas insulin contohnya metformin. Penggunaan metformin jangka panjang dapat menimbulkan komplikasi asidosis laktat, khususnya pada individu dengan insufisiensi ginjal dan gagal jantung kongestif, walaupun komplikasi tersebut jarang terjadi, tapi tetap harus diperhatikan karena dampak yang ditimbulkan cukup serius.⁴

Selain tatalaksana dengan obat-obatan, masyarakat di Lombok Timur, NTB menggunakan ramuan untuk mengobati penyakit diabetes (kencing manis). Bahan-bahan yang terdapat pada ramuan ini adalah jahe (*Zingiber officinale*), akar putri malu (*Mimosa Pudica*), daun salam (*Syzygium polyanthum*), akar alang-alang (*Imperata cylindrica*), dan bunga rumput pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis (L) Vahl*). Bahan-bahan yang terdapat dalam ramuan tersebut dipercaya dapat mengobati diabetes karena mengandung flavonoid yang memiliki efek antidiabetik.^{5,6}

Efek antidiabetik dari flavonoid melalui proteksi langsung dan tidak langsung pada sel β pankreas dari kerusakan dan stres oksidatif, dan meningkatkan sekresi insulin. Flavonoid juga dapat menstimulasi *uptake* glukosa pada jaringan perifer melalui translokasi *glucose transporter type 4 (GLUT4)*.⁷

DM dapat mengakibatkan gangguan pada fungsi ginjal. Sebanyak 44% kasus baru gagal ginjal ditemukan pada pasien dengan DM. DM dapat mengarah kepada penyakit ginjal kronis dan gagal ginjal meskipun kadar gula darah pasien dapat terkontrol. Nefropati diabetik ditemukan pada sepertiga pasien dengan DM dan angka tersebut masih akan bertambah.⁸

DM dapat mengakibatkan komplikasi mikrovaskular berupa nefropati diabetikum (ND). Keadaan hiperglikemi yang persisten dapat meningkatkan aktivitas jalur-jalur yang berkontribusi terhadap stres oksidatif seperti: (1) auto-oksidasi glukosa, (2) pembentukan *advanced end-product (AGE)*, (3) akselerasi jalur poliol, (4) aktivasi protein kinase C (PKC) dan (5) disfungsi mitokondria.⁸

Reactive oxygen species (ROS) adalah senyawa pengoksidasi turunan yang bersifat sangat reaktif, terdiri atas kelompok radikal bebas dan nonradikal. Kelompok radikal bebas yaitu *superoxide anion* (O_2^-), *hydroxyl radicals* (OH^-), dan *peroxyl radicals* (RO_2). ROS dapat mempengaruhi bioavailabilitas dari nitrit oksida (NO) dan mencetus pembentukan mediator-mediator vasokonstriksi yang dapat mempengaruhi fungsi dari ginjal yaitu Laju Filtrasi Glomerulus (LFG) yang berakibat pada peningkatan kadar ureum dan kreatinin serum, disertai dengan penurunan klirens kreatinin serta proteinuria. Flavonoid dipercaya memiliki peran renoprotektif dengan cara menghasilkan efek vasorelaksan pada jaringan vaskuler.^{7,9}

Untuk mengetahui bagaimana pengaruh penggunaan ramuan kencing manis dari Lombok terhadap fungsi ginjal, dilakukan penelitian menggunakan hewan coba dengan mengukur kadar ureum dan kreatinin serum sebagai parameter pemeriksaan fungsi ginjal. Pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok kepada hewan coba dilakukan selama 7 hari berdasarkan keterangan dari penyehat tradisional (Hatra) bahwa ramuan ini diberikan sebanyak 3 kali sehari selama satu minggu, dan perlakuan diperpanjang selama 14 hari. Perlakuan diperpanjang selama 14 hari karena batas toksisitas akut didapatkan pada 14 hari, lebih dari itu sudah termasuk masa subkronis.¹⁰

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan suatu penelitian eksperimental laboratoris murni. Rancangan penelitian berupa *post test only control group design*. Kelompok

penelitian terdiri dari empat kelompok yaitu dua kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan.

Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih jantan strain Wistar. Kriteria inklusi penelitian ini adalah tikus putih jantan strain Wistar dengan usia 2-3 bulan dan berat badan berkisar antara 150-300 gram dan dalam keadaan hiperglikemia. Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan metode acak sederhana (*simple random sampling*).

Kelompok kontrol dan perlakuan diinduksi nikotinamid dan *streptozotocin* secara intraperitoneal. Setelah 72 jam pasca penginduksian, dilakukan pengukuran gula darah sewaktu untuk mengkonfirmasi keadaan diabetes pada kedua kelompok dan dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok selama 7 hari untuk kelompok perlakuan pertama dan sampai 14 hari untuk kelompok perlakuan kedua. Kelompok kontrol 7 dan 14 hari dilakukan pengamatan tanpa pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok. Pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok diberikan peroral dengan sonde satu kali sehari.

Diet tinggi lemak dan protein diberikan pada hewan coba untuk membantu penginduksian DM. Pakan terdiri dari campuran pakan standar, telur puyuh, margarin, dan lemak sapi. Bahan tersebut dipanggang dan diberikan kepada hewan coba sebanyak 40gr/ekor/hari.

HASIL

Hasil rerata kadar ureum dan kreatinin serum pada tikus yang diinduksi dengan nikotinamid dan *streptozotocin* dan diberikan ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Rerata Kadar Ureum dan Kreatinin Serum

| Kelompok | Jumlah Unit Replikasi (ekor) | Rerata ± Standar Deviasi | |
|----------|------------------------------|--------------------------|-------------------|
| | | Ureum (mg/dL) | Kreatinin (mg/dL) |
| P1 | 4 | 46,25±12,90 | 0,55±0,58 |
| P2 | 4 | 60,50±20,70 | 0,53±0,05 |
| K1 | 4 | 52,75±18,32 | 0,55±0,58 |
| K2 | 4 | 42,00±13,30 | 0,48±0,05 |

Berdasarkan data pada tabel 1 dapat dilihat bahwa rerata kadar ureum pada kelompok P2 memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Rerata kadar kreatinin tertinggi terdapat pada kelompok P1 dan K1. Rerata kadar ureum paling rendah didapatkan pada kelompok K2, dan rerata kadar kreatinin paling rendah terdapat di kelompok K2.

Hasil uji normalitas masing-masing kelompok sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

| Kelompok perlakuan | R | Nilai <i>p</i> pada uji normalitas | |
|--------------------|---|------------------------------------|-----------|
| | | Ureum | Kreatinin |
| P1 | 4 | 0,02 | 0,02 |
| P2 | 4 | 0,63 | 0,001 |
| K1 | 4 | 0,39 | 0,02 |
| K2 | 4 | 0,30 | 0,001 |

Hasil uji normalitas menunjukkan ada kelompok yang memiliki nilai $p < 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa distribusi data tidak normal. Untuk mengetahui perbedaan kadar ureum dan kreatinin serum pada kelompok perlakuan dan kontrol 7 dan 14 hari, digunakan uji hipotesis nonparametrik *Mann-Whitney*. Untuk melihat pengaruh lama pemberian dari ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) yang diinduksikan dengan *streptozotocin* dan nikotinamid digunakan uji hipotesis nonparametrik *Mann-Whitney*.

Tabel 3. Uji Hipotesis *Mann-Whitney*

| Kelompok | Nilai P | |
|----------|---------|-----------|
| | Ureum | Kreatinin |
| P1-K1 | 0,69 | 1,00 |
| P2-K2 | 0,12 | 0,35 |
| P1-P2 | 0,49 | 0,69 |

Tabel 5.3 uji *Mann-Whitney*, menunjukkan nilai $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara kadar ureum dan kreatinin serum tikus yang diberikan ekstrak etanol ramuan kencing manis dari lombok dan tikus dalam kelompok kontrol. Nilai $p > 0,05$ juga menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan lama pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) yang diinduksikan dengan *streptozotocin* dan nikotinamid.

PEMBAHASAN

Ureum dan kreatinin serum digunakan sebagai parameter fungsi filtrasi ginjal. Ureum adalah hasil akhir katabolisme asam amino. Peningkatan kadar ureum serum dapat menandakan adanya gangguan fungsi ginjal akibat penurunan filtrasi glomerulus. Kadar ureum serum yang meningkat juga dapat diakibatkan oleh diet tinggi protein, dehidrasi, dan stres.¹¹

Kreatinin merupakan hasil sintesis metionin, glisin, dan arginin di hepar. Kreatin akan difosforilasi dalam otot rangka menjadi fosforil kreatin yang merupakan simpanan energi untuk sintesis ATP. Peningkatan kadar kreatinin dalam darah menandakan adanya gangguan pada filtrasi glomerulus karena kreatinin seluruhnya diekskresikan dalam urin melalui filtrasi glomerulus.^{11,12}

Pada tikus putih jantan strain Wistar (*Rattus norvegicus L.*). Usia 2-3 bulan, kadar normal kreatinin serum berkisar antara 0,50-0,60 mg/dL. Kadar ureum serum normal berkisar antara 13,00-16,00 mg/dL, lalu.¹³

Rerata kadar kreatinin serum kelompok perlakuan 7 hari adalah 0,55 mg/dL dan kelompok kontrol 7 hari adalah 0,55 mg/dL, kedua nilai tersebut masih dalam ambang batas normal kadar kreatinin serum pada tikus putih. Kadar normal kreatinin serum juga didapatkan pada kelompok perlakuan 14 hari (0,53 mg/dL) dan kelompok kontrol 14 hari (0,48 mg/dL).

Data tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi gangguan filtrasi glomerulus pada kelompok kontrol dan perlakuan. Kadar kreatinin serum juga tidak dipengaruhi oleh asupan makanan, usia, jenis kelamin, maupun aktivitas.

Kadar kreatinin serum memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dalam menilai gangguan fungsi ginjal dibandingkan dengan kadar ureum serum.

Data pada tabel 1 menunjukkan rerata kadar ureum pada kelompok perlakuan 7 hari adalah 46,25 mg/dL, lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol 7 hari yaitu 52,75 mg/dL. Namun kadar ureum serum kedua kelompok baik kelompok perlakuan 7 hari dan kontrol 7 hari mengalami peningkatan dibandingkan nilai normal yaitu antara 13,00-16,00 mg/dL. Peningkatan kadar ureum serum dari nilai normal juga didapatkan pada kelompok perlakuan 14 hari (60,50 mg/dL) dan kelompok kontrol 14 hari (42 mg/dL).

Kadar ureum serum kelompok perlakuan dan kontrol baik 7 hari maupun 14 hari mengalami peningkatan dibandingkan nilai normal dapat dikarenakan oleh beberapa hal seperti keadaan dehidrasi, maupun stres. Kadar ureum serum kurang dapat mencerminkan adanya gangguan pada ginjal karena kadarnya bergantung pada asupan protein, reabsorpsi tubulus, dan stres. Faktor dehidrasi dapat disingkirkan karena pada penelitian ini hewan coba diberikan air minum secara *ad libitum*.¹⁴

Keadaan DM dapat mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Dalam kondisi tersebut, produksi NO akan meningkat dan mencetuskan pelepasan mediator-mediator vasokonstriktif yang akan mempengaruhi fungsi ginjal yaitu penurunan laju filtrasi glomerulus (LFG) yang akan mengakibatkan peningkatan kadar ureum dan kreatinin serum. Keadaan stres oksidatif terjadi kenaikan kadar ureum dan kreatinin serum dikarenakan adanya penurunan LFG, sedangkan pada tabel 1 hanya ureum yang mengalami peningkatan.⁷

Maka dari itu, kemungkinan paling besar penyebab naiknya kadar ureum serum pada kelompok perlakuan dan kontrol 7 dan 14 hari karena pemberian diet tinggi protein. Sebanyak 99% dari sintesis urea terjadi di hepar. Sumber utamanya adalah asupan protein dari makanan. Dalam usus, protein diubah menjadi peptida dan asam amino, 90% akan diserap dan dibawa ke hepar. Asam amino akan melalui proses deaminasi dan transaminasi di hepatosit. Nitrogen hasil dari proses tersebut akan masuk ke siklus urea dan hasil akhirnya adalah ureum serum. Ureum kurang sensitif sebagai parameter pengukuran fungsi ginjal dibandingkan dengan kreatinin karena ureum dipengaruhi oleh asupan protein¹⁵.

Uji hipotesis *Mann-Whitney* didapatkan nilai $p > 0,05$, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus yang diinduksi nikotinamid dan *streptozotocin*. Tidak didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar ureum dan kreatinin serum pada pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok selama 7 dengan pemberian selama 14 hari.

Pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok tidak memiliki efek toksik pada ginjal, ditandai dengan kadar kreatinin serum pada seluruh kelompok yang masih dalam batas normal. Efek renoprotektif dari flavonoid belum bisa terlihat karena kadar kreatinin pada keempat kelompok baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol masih dalam batas normal.

KESIMPULAN

Lama pemberian ekstrak etanol ramuan kencing manis dari Lombok dengan dosis 73,4mg/200grBB/hari tidak berpengaruh terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus putih jantan (*Rattus norvegicus L.*) yang diinduksi nikotinamid dan *streptozotocin*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar V, Abbas A and Aster J, *Robbins Basic Pathology*. 9th ed. Elsevier. 2015. Available at: <<https://www.elsevier.com/books/robbins-basic-pathology/kumar/978-1-4377-1781-5>>.
2. American Diabetes Association, Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, 2015. [online] 38 (Supplement 1), p.S8 LP-S16. Available at: <http://care.diabetesjournals.org/content/38/Supplement_1/S8.abstract>.
3. WHO, Global Report on Diabetes. *Isbn*, 2016. [online] 978, p.88. Available at: <http://www.who.int/about/licensing/%5Cnhttp://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf>.
4. Price S A and Wilson L M, *Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Vol. 2*. 6th edition. EGC. 2006.
5. Nurhidayati, Ekawanti A and Padauleng N. Potensi Ramuan Kencing Manis dari Lombok: Kajian Uji Toksisitas dan Aktivitas Antidiabetik In Vivo pada Tikus yang Diinduksi Nikotinamid dan Streptozotocin. 2016. [no publish].
6. Taufiqurrohman, Indonesian Bay Leaves As Antidiabetic for Type 2 Diabetes Mellitus. *Jurnal Majority*, 2015. [online] 4(3), pp.101–108. Available at: <<http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/viewFile/558/559>>.
7. Gomes I B S, Porto M L, Santos M C L F S , Campagnaro, B.P., Pereira, T.M.C., Meyrelles, S.S. and Vasquez, E.C., 2014. Renoprotective, anti-oxidative and anti-apoptotic effects of oral low-dose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy. *Lipids in Health and Disease*, [online] 13(1), pp.1–10. Available at: <<http://www.lipidworld.com/content/13/1/184>>.
8. Singh P, Khan, S and Mittal R K, Renal Function Test on The Basis of Serum Creatinine and Urea in Type-2 Diabetics and Nondiabetics. *Bali Medical Journal*, 2014. [online] 3(1), pp.11–14. Available at: <http://www.balimedicaljournal.org/index.php/bmj/article/viewFile/62/pdf_68>.
9. Schwab, M., *Reactive Oxygen Species. Encyclopedic Reference of Cancer*, 2001. Available at: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=23678672&site=ehost-live>>.
10. Inker, L.A., *Kidney Function Assessment : The Need for a Confirmatory Test*. [online] Renal & Urology News. 2015. Available at:

<<http://media.proquest.com.ezproxy.une.edu.au/media/pq/classic/doc/4238318291/fmt/pi/rep/NONE?cit%3Aauth=Inker%2C+Lesley+A%2C+MD%2C+MS&cit%3Atitle=Kidney+Function+Assessment%3A+The+Need+for+a+Confirmatory+Test&cit%3Apub=Renal+%26+Urology+News&cit%3Avol=13&>> [Accessed 7 Jun. 2017].

11. Fuadi, A., 2009. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill) Terhadap Gambaran Ureum dan Kreatinin pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Etilen Glikol*. Institut Pertanian Bogor.
12. Guyton A C and Hall, J., *Guyton dan Hall Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 12th. Jakarta: Elsevier.
13. Giknis M L A and Clifford, C.B., *Clinical Laboratory Parameters for Crl:CD(SD) Rats*. [online] 2006. Available at: <http://www.criver.com/files/pdfs/rms/cd/rm_rm_r_clinical_parameters_cd_rat_06.aspx>.
14. Lindenfeld J. and Schrier R W, 2011. Blood Urea Nitrogen. *Journal of the American College of Cardiology*, [online] 58(4), p.383 LP-385. Available at: <<http://www.onlinejacc.org/content/58/4/383.abstract>>.
15. Hosten A O , BUN and Creatinine. In: H.K. Walker, W.. Hall and J.W. Hurst, eds., *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*, 3rd ed. [online] 1990.Boston: butterworths, p.874. Available at: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK305>>.