



**PENGARUH PEMBERIAN RUMPUT MUTIARA (*Hedyotis corymbosa*)
DENGAN DOSIS BERTINGKAT
TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL MENCIT *BALB/C***

ARTIKEL PENELITIAN

Diajukan guna memenuhi tugas dan melengkapi syarat
dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana
Fakultas Kedokteran

Disusun Oleh :

Maria Christien Agustie
G2A002112

1

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2006**

HALAMAN PENGESAHAN

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH PEMBERIAN RUMPUT MUTIARA (*Hedyotis corymbosa*) DENGAN DOSIS
BERTINGKAT**

TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGI GINJAL MENCIT BALB/C

Telah diuji dan dipertahankan dihadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 9 Agustus 2006 dan telah diperbaiki sesuai saran-saran yang diberikan.

Semarang, 10 Agustus 2006

Ketua Penguji

Penguji

dr. Andrew Johan, M.Si
NIP. 131 673 427

Drs. Suhardjono, Apt, M.Si
NIP. 130 937 451

Pembimbing

dr. Bambang Witjahjo, M.Kes
NIP.131 281 555

ABSTRACT

***The Effect of Gradual Doses of Rumput Mutiara (Hedyotis corymbosa)
To The Kidney Histological Appearance of Balb/c Mice***

Maria C A¹, Bambang Witjahyo²

Background : Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) is one of the herbal medicines used empirically by Indonesian people to treat diseases or to maintain their health. Its originated products have been sold in wide variety of doses. People use it for a long period of time. In the body, *Hedyotis corymbosa* will be absorbed, distributed, metabolized and excreted. Kidney is the primary organ of excretion, so it is often damaged by toxic substances. The purpose of this experiment is to evaluate the changes of histological appearance of Balb/c mice's kidneys after the administration of gradual doses of *Hedyotis corymbosa* for 14 days.

Method : This was experimental study using the post test only control group design. The samples were 20 Balb/c mice with specific criteria and randomized into 4 groups. The Control group (K) received water only, while group P1,P2,P3 were given the extract of *Hedyotis corymbosa* in gradual doses for 14 days, respectively 80 mg, 160 mg, and 320 mg.

Results: There were proximal tubule damages i.e edema in almost every group extend from mild to severe. Using One Way ANOVA test, there was a significant difference between groups ($p < 0.05$), continued with Post Hoc test, there was a significant difference ($p < 0,05$) between groups: K and P1-3; P1 and P3; P2 and P3, but no significant difference ($p > 0.05$) between group P1 and P2.

Conclusion : There are differences in histological appearance of mice's kidney i.e oedema of proximal tubules, between the groups which was not given *Hedyotis corymbosa* with the groups given, in accordance with the increasing doses .

Keywords : Balb/c mice, *Hedyotis corymbosa*, proximal tubule

1 : Undergraduate Student. School of Medicine. Diponegoro University

2 : Lecturer, Department of Histology. Medical Faculty. Diponegoro University

ABSTRAK

Pengaruh Pemberian Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) dengan Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Balb/c

Maria C A¹, Bambang Witjahyo²

Latar Belakang : Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) adalah salah satu tanaman obat yang banyak digunakan secara empiris oleh masyarakat Indonesia untuk menyembuhkan penyakit ataupun untuk menjaga kesehatan. Produk hasil olahannya kini telah dipasarkan dengan variasi dosis yang luas. Banyak masyarakat yang menggunakannya dalam jangka waktu yang lama. Di dalam tubuh, *Hedyotis corymbosa* akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Ginjal adalah organ ekskresi utama, sehingga seringkali mengalami kerusakan jika terpapar oleh zat-zat toksik. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui perubahan gambaran histologik ginjal mencit *Balb/c* setelah pemberian *Hedyotis corymbosa* dengan dosis bertingkat selama 14 hari.

Metoda : Penelitian eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design*. Jumlah sampel 20 ekor mencit *Balb/c* dengan kriteria spesifik, dan secara acak dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing 5 ekor. Kelompok K adalah kelompok Kontrol, hanya diberikan aquades, sedangkan kelompok P1, P2, P3 diberi ekstrak *Hedyotis corymbosa* dengan dosis bertingkat, masing-masing 80 mg, 160 mg, dan 320 mg selama 14 hari.

Hasil : Dari preparat histologi ginjal terlihat bahwa pada semua kelompok terdapat kerusakan tubulus proksimal berupa edema dengan derajat ringan sampai berat. Uji *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar beberapa kelompok. Kemudian dengan uji perbandingan multipel *Post Hoc*, terlihat bahwa ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok : K dan P1; K dan P2; K dan P3; P1 dan P3; P2 dan P3, namun terbukti adanya perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$) antara kelompok P1 dan P2.

Kesimpulan : Terdapat perubahan gambaran histologi ginjal mencit *Balb/c* berupa edema tubulus proksimal antara kelompok yang tidak diberi *Hedyotis corymbosa* dengan yang diberi sesuai dengan meningkatnya dosis.

Kata kunci: Mencit *Balb/c*, *Hedyotis corymbosa*, tubulus proksimal

1 : Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

2 : Staf pengajar bagian Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang kaya akan tanaman-tanaman yang berkhasiat obat. Salah satu tanaman yang kini sudah dijadikan obat herbal dan banyak dikonsumsi masyarakat adalah Rumput Mutiara, dengan nama latin *Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk atau *Oldelandia corymbosa* Linn, yang termasuk dalam famili *Rubiaceae*.¹⁻³ Tanaman ini hidup liar di berbagai tempat seperti kebun, pinggir jalan sampai di pinggir selokan yang mendapat cukup sinar matahari dan air.^{1,4-6} Seluruh bagian tanaman dapat digunakan sebagai obat yang dipercaya berkhasiat sebagai antiradang, antikanker, antipiretik, diuresis, melancarkan peredaran darah, antitoksin, dan masih banyak lagi.^{1,2,4,6,7} Masyarakat mengkonsumsinya dalam bentuk asli (berupa air rebusan tanaman, atau tanaman yang dilumatkan) maupun hasil olahannya (berupa tablet, granule, teh, dan kapsul) dalam dosis yang bervariasi.^{1,6,7}

Hedyotis corymbosa mengandung berbagai senyawa kimia, diantaranya yang telah teridentifikasi dalam ekstraknya, antara lain : asam ursolat, asam oleanolat, γ -sitosterol, β -sitosterol, stigmasterol, senyawa iridoid (antara lain asperulosid, skandosidmetilester, benzoilskandosidmetilester), n-benzoil-1-fenilalanin-1-fenilalaninol asetat, flavonoid, hentriacontan, p-asam kumarat, tanin, dan kumarin.^{3,4,6-9}

Berbagai senyawa kimia ini memiliki sifat yang berbeda-beda dengan efek yang berbeda pula di dalam tubuh.

Secara farmakokinetik, obat yang masuk ke dalam tubuh akan mengalami absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang tidak sengaja masuk ke dalam tubuh.¹⁰⁻¹²

Karena *Hedyotis corymbosa* mengandung berbagai senyawa kimia dengan sifat yang berbeda-beda, ada kemungkinan interaksi dari senyawa-senyawa tersebut dalam tubuh, sisa-sisa metabolisemenya, maupun kandungan senyawa lain yang belum diketahui bentuk dan sifatnya, dapat mempengaruhi struktur ginjal sebagai organ ekskresi yang mengalami kontak dengan senyawa-senyawa tersebut. Kerusakan ginjal karena zat toksik dapat diidentifikasi berdasarkan perubahan struktur histologi, yaitu nekrosis tubular akut (NTA) yang secara morfologi ditandai dengan destruksi epitel tubulus proksimal. Sel epitel tubulus proksimal ini peka terhadap anoksia dan mudah hancur karena keracunan akibat kontak dengan bahan-bahan yang diekskresikan melalui ginjal.^{13,14} Pada NTA nefrotoksik terlihat gambaran korteks ginjal pucat, ginjal membesar dan edem, kongesti piramid, vakuolisasi sitoplasma sel epitel tubulus dan terbanyak di tubulus proksimal.^{13,15} Pada gambaran mikroskopis tampak degenerasi tubulus proksimal berupa edema epitel tubulus dengan lumen yang mengandung debris, tetapi membrana basalis tetap utuh.¹⁵⁻¹⁷

Perubahan struktur histologis ginjal ini tentu dipengaruhi oleh jumlah senyawa yang masuk ke dalam tubuh. Efek toksik sangat mungkin muncul apabila masyarakat menggunakannya dengan dosis yang berlebihan. Hal inilah yang mendorong penulis untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan gambaran histologik ginjal mencit *Balb/c* setelah pemberian *Hedyotis corymbosa* dengan dosis bertingkat selama 14 hari. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh *Hedyotis corymbosa* terhadap ginjal serta sebagai bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut.

Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *the post test only control group design*. Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan *Research Guidelines For Evaluating The Safety and Efficacy of*

Herbal Medicines, yaitu jumlah mencit pada tiap kelompok minimal 5 ekor.¹⁸ Jumlah sampel penelitian 20 ekor mencit *Balb/c*. Sampel dibagi dalam 4 kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit jantan strain *Balb/c*, umur 2-3 bulan, berat badan 20-25 gram dan tak ada abnormalitas. Kelompok Kontrol (K) hanya diberi pakan standar dan aquades. Kelompok Perlakuan 1-3 (P1, P2, P3) masing-masing, secara berurutan, diberi pakan standar dan ekstrak *Hedyotis corymbosa* dengan dosis 80 mg ; 160 mg ; dan 320 mg secara oral setiap hari selama 14 hari. Ekstrak dibuat dari bahan simplisia kering yang didapat dari PT Karyasari Jakarta. Pembuatan ekstraknya dikerjakan di Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dengan metode soxhletisasi.

Setelah perlakuan, pada hari kelimabelas mencit diterminasi, kemudian diambil organ ginjalnya lalu difiksasi dengan *buffer* formalin 10% dan diproses mengikuti metoda baku histologik dengan pewarnaan HE. Dari setiap organ diamati di bawah mikroskop dalam 5 lapangan pandang, yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat, dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah tubulus proksimal ginjal. Pada setiap lapangan pandang dihitung persentase tubulus proksimal yang mengalami edema.

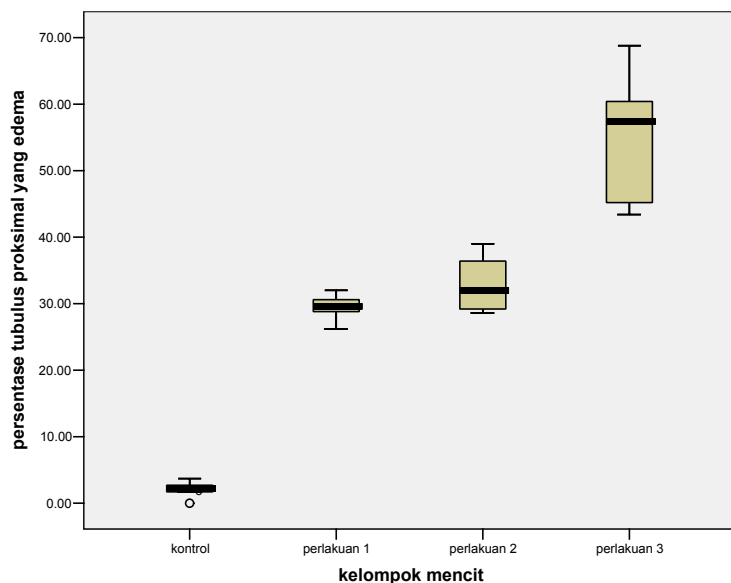
Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil pengamatan mikroskopis. Variabel bebas berskala nominal berupa pemberian *Hedyotis corymbosa* pada kelompok P1, P2, P3. Variabel tergantung berskala rasio berupa persentase edema tubulus proksimal ginjal. Data diolah menggunakan komputer dengan program SPSS 13.0. Uji normalitas data digunakan uji *Shapiro-Wilk*. Pada penelitian ini didapatkan distribusi data normal, lalu uji beda dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc Bonferroni* untuk perbandingan antar kelompok.

Hasil

Kerusakan tubulus proksimal ginjal mencit *Balb/c* diperiksa dengan menghitung persentase tubulus proksimal yang mengalami edema pada 5 lapangan pandang untuk setiap mencit pada masing-masing kelompok dengan cara menghitung jumlah tubulus proksimal yang mengalami edema lalu dibagi jumlah seluruh tubulus proksimal yang ada (baik yang edem maupun yang normal) dalam satu lapangan pandang tersebut, kemudian dikali seratus persen. Setelah didapat hasil persentase dari kelima lapangan pandang, dihitung rata-rata

persentasenya. Hasil rata-rata persentase dari kelima lapangan pandang tersebut adalah wakil dari nilai kerusakan tubulus proksimal setiap mencit.

Dengan diagram *box-plot* dapat terlihat gambaran perubahan kerusakan pada masing-masing kelompok.



Gambar 1. Diagram *box plot* edema tubulus proksimal

Data hasil penelitian diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk*, dan didapatkan ternyata data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dengan nilai kemaknaan $p = 0,200$. Uji homogenitas varians dengan *Levene's Test* menunjukkan bahwa varians data tidak sama/ tidak homogen ($p < 0,05$) dengan nilai kemaknaan $p = 0,001$. Karena distribusi data normal namun varians data tidak sama maka data ditransformasi dahulu agar menjadi sama dengan *square root* (akar). Setelah data homogen (varians data sama) maka uji hipotesa dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One Way ANOVA*. Hasil uji Parametrik *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada rerata persentase edema sel epitel tubulus proksimal ginjal pada lima kelompok yang diuji dimana $p < 0,05$ ($p = 0,000$). Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk melihat perbedaan antar kelompok (ditunjukkan pada tabel 1).

Tabel 1. Uji Statistik Perbandingan Antar Kelompok

	K	P1	P2	P3
K	—	0,000*	0,000*	0,000*

P1	0,000*	—	1,000	0,000*
P2	0,000*	1,000	—	0,002*
P3	0,000*	0,000*	0,002*	—

* : berbeda bermakna ($p < 0,05$)

Hasil perbandingan antar kelompok dengan uji *Post Hoc* membuktikan bahwa ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok-kelompok sebagai berikut : K dan P1; K dan P2; K dan P3; P1 dan P3; serta P2 dan P3. Namun terbukti pula adanya perubahan yang tidak bermakna, dimana $p > 0,05$ pada kelompok P1 dan P2 (nilai $p = 1,000$).

Pembahasan

Pada penelitian ini, diperoleh hasil uji statistik berbeda bermakna antara kelompok K dengan kelompok P1, P2 dan P3, artinya terjadi perubahan yang signifikan pada gambaran histologi ginjal mencit *Balb/c* setelah pemberian *Hedyotis corymbosa* dengan ketiga dosis bertingkat dibandingkan dengan yang tidak diberikan. Perubahan tersebut berupa edema tubulus proksimal yang bersifat reversibel.

Uji statistik antara kelompok P1 dan P2 menunjukkan adanya perbedaan gambaran histologi yang tidak bermakna, artinya telah terjadi kenaikan derajat edema tubulus proksimal pada P2 jika dibandingkan dengan,

namun kenaikannya tidak signifikan. Perbedaan yang tidak bermakna secara statistik antara kelompok P1 dan P2 dapat disebabkan oleh hal-hal sebagai berikut : 1) jangka waktu penelitian yang kurang panjang sehingga pengaruh pemberian *Hedyotis corymbosa* belum menunjukkan perubahan yang bermakna, 2) peningkatan dosis Rumput Mutiara yang diberikan pada kelompok P2 tidak jauh berbeda dengan dosis awal yang diberikan pada kelompok P1 (hanya dua kalinya saja) sehingga perubahan yang terjadi juga tidak begitu besar. 3) jumlah sampel penelitian yang terbatas sehingga variasi data yang didapatkan juga terbatas.

Sedangkan perbandingan antara kelompok P3 dengan kelompok K, P1, P2 didapatkan hasil uji statistik berbeda bermakna ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *Hedyotis corymbosa* dengan dosis 320 mg telah menimbulkan derajat kerusakan ginjal yang paling besar.

Dari data hasil perbandingan antar kelompok di atas terlihat bahwa persentase edema tubulus proksimal meningkat seiring meningkatnya dosis. Hal ini sesuai dengan teori bahwa secara farmakokinetik, setiap obat yang masuk ke dalam tubuh, termasuk *Hedyotis corymbosa*, akan mengalami proses absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi.^{10,11} Proses ekskresi obat yang berlangsung di ginjal dapat mempengaruhi gambaran histologis ginjal, walaupun bersifat reversibel.

Ekskresi di ginjal merupakan hasil dari 3 proses, yaitu filtrasi di glomerulus, sekresi aktif di tubuli proksimal, serta reabsorpsi pasif di tubuli proksimal dan distal.¹¹ Tubulus proksimal ginjal merupakan tempat pertama yang menyelenggarakan penyerapan kembali (reabsorpsi) bahan-bahan filtrat dan juga sangat aktif dalam proses pembuangan produk tertentu dari darah.¹⁹ Epitel yang membatasi tubulus proksimal tersusun khusus berbentuk bulu-bulu sapu (*brush border*) untuk permukaan reabsorpsi.²⁰

Proses ekskresi obat dapat menyebabkan kerusakan tubulus, berupa Nekrosis Tubuler Akut (NTA) yang bersifat reversibel karena sel-sel epitel tubulus proximal kemampuan daya regenerasi yang baik. Secara morfologi ditandai dengan destruksi sel epitel tubulus proksimal, namun membrana basalis tubuli pada umumnya masih baik.^{16,21} Kejadian kritis pada Nekrosis Tubular Akut (NTA) diduga adalah jejas tubuler. Sel epitel tubulus mudah hancur karena kontak dengan bahan-bahan toksik yang diekskresi melalui ginjal. Edema tubulus proksimal adalah manifestasi awal dari jejas. Pada gambaran mikroskopis, sel-sel epitel tubulus proksimal akan membengkak dengan sitoplasma granuler karena pergeseran air ekstraselular ke dalam sel.²²

Pergeseran cairan ini terjadi karena toksin menyebabkan perubahan muatan listrik permukaan sel epitel tubulus, transpor aktif ion dan asam organik, dan kemampuan untuk mengkonsentrasikannya. Hal ini mengakibatkan tubulus rusak, aliran kemih terganggu, tekanan intra tubulus meningkat, kecepatan filtrasi glomerulus menurun.²¹ Gambaran pembengkakan sel ini disebut degenerasi albuminosa atau degenerasi parenkimatososa atau *cloudy swelling* (bengkak keruh), merupakan bentuk degenerasi yang paling ringan serta bersifat reversibel.^{23,24} Jejas tubuler tadi jika terus berlanjut akan diikuti vasokonstriksi arteriol pranglomerulus, lalu menyebabkan iskemik, diikuti dengan nekrosis tubulus.¹³

Kesimpulan

Pemberian ekstrak *Hedyotis corymbosa* dengan dosis bertingkat selama 14 hari dapat menyebabkan perubahan gambaran histologik ginjal mencit *Balb/c* berupa edema tubulus proksimal. Peningkatan persentase tubulus proksimal ini terjadi baik pada dosis 80 mg, 160 mg maupun 320 mg. Persentase edema tubulus proksimal meningkat sesuai dengan meningkatnya dosis.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh *Hedyotis corymbosa* terhadap gambaran histologik dan fungsi ginjal dengan waktu yang lebih lama.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan *Hedyotis corymbosa* yang bersifat toksik terhadap ginjal.

Ucapan Terimakasih

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Tuhan Yang Maha Esa; dr. RB Bambang Witjahyo, MKes selaku dosen pembimbing; dr. Udadi Sadhana, MKes selaku reviewer; Drs. Gunardi MS.Apt yang telah membantu dalam pembuatan ekstrak; dr. Ika Pawitra Miranti selaku konsultan dalam pembacaan preparat; dr. Andrew Johan M.Si dan Drs. Suhardjono Apt, M.Si selaku penguji artikel; staf laboratorium Histologi, Patologi Anatomi, Bioteknologi dan Biokimia, serta semua pihak

yang telah membantu penulis hingga terselesainya artikel karya tulis ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tanaman Obat Indonesia. Available from URL : HYPERLINK www.IPTEKnet.htm. 2005. Disitasi pada tanggal 3 Juli 2005.
2. Sudarsono et al. Tumbuhan obat II Hasil Penelitian, Sifat-sifat, dan Penggunaan. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM; 2002.
3. Sudarsono. Asperulosid, Senyawa Iridoid *Hedyotis corymbosa (L.)Lamk. (Oldelandia corymbosa Linn)*, Suku *Rubiaceae*. Available from URL : HYPERLINK Members.tripod.com/~ugm2/mFi103.htm. 2005. Disitasi pada tanggal 7 Juli 2005.
4. Hariya Djau Endjo, Hernani. Ragam jenis gulma berpotensi obat. Jakarta: Penebar Swadaya; 2004.
5. Busey Philip. Old World Diamondflower. Available from URL : HYPERLINK <http://floridaturf.com/diamondflower/>. 2005. Disitasi pada tanggal 3 Agustus 2005.
6. Rumput Mutiara Mengaktifkan Sirkulasi Darah. Available from URL : HYPERLINK <http://www.republika.co.id.2004>. Disitasi pada tanggal 3 Agustus 2005.
7. Dharmananda Subhuti. *Oldelandia* and *Scutellaria* antitoxin and anticancer Herbs. Available from URL :

HYPERLINK <http://www.itmoline.org/arts/oldelandia.htm> . September 2004. Disitasi pada tanggal 3 Agustus 2005.

8. Hsu H Y. Tumor inhibition by several components extracted from *Hedyotis corymbosa* and *Hedyotis diffusa*. Available from URL : HYPERLINK <http://www.cancerprev.org/Journal?Issues/22/101/28/2864>. 2004. Disitasi pada tanggal 7 Juli 2005.
9. Hsu H Y. Involvement of p-151NK4b gene expression in oleanic acid and ursolic acid induced apoptosis of hepG2 cells. Available from URL : HYPERLINK <http://www.cancerprev.org/Journal/Issues/126/101/1092/4315.2004>. Disitasi pada tanggal 7 Juli 2005.
10. Katzung BG, Andrianto Petrus, alih bahasa. Farmakologi dasar dan klinik. Ed. 3. Jakarta : EGC; 1989.
11. Ganiswarna G. Sulistia, editor. Farmakologi dan terapi. Ed. 4. Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995.
12. Guyton, Hall, Setiawan I, editor. Buku ajar fisiologi kedokteran. Ed. 9. Jakarta: EGC; 1997.
13. Underwood JCE, Sarjadi, editor. Patologi umum dan sistemik Ed. 2. Jakarta : EGC; 1999.
14. Robbins SL, Cotran. Pathologic basic of disease. 7th Ed. Philadelphia : Elsevier Saunders; 2005.
15. Macfarlane PS, Reid R, Callander R. Pathology Illustrated. Churcill Livingstone. New York. 2000.
16. Robbins SL, Kumar V, Oswari J, editor. Buku ajar patologi II (Basic Pathology). Jakarta:EGC; 1995.
17. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi: Konsep klinis proses-proses penyakit. Ed. 4. Jakarta: EGC; 1995.
18. World Health Organization. Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines. Manila: World Health Organization Regional Office for the Western Pacific, 1993.
19. Hartono Andry. Prinsip diet penyakit ginjal, edisi IV. Jakarta : ARCA; 1995.
20. Soejoto. Sistem urin. Didalam : Nurdjaman, Soejoto, Soetedjo, M Sultana, Witjahyo Bambang, Susilaningsih Neni, dkk. Histologi II. Semarang : Balai penerbit FK UNDIP; 2001.
21. Wijaya Indra, Miranti P Ika. Patologi ginjal & saluran kemih, edisi II. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2003.
22. Robbins SL, Kumar V, Oswari J, editor. Buku ajar patologi I (*Basic Pathology*). Jakarta : EGC, 1995.
23. Sarjadi. Patologi Umum, edisi II. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2003.
24. Sarjadi, Wijaya I, Endro PB, Sadhana U. Panduan praktikum patologi anatomi, edisi II. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2003.