



**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK VALERIAN PADA
TIKUS WISTAR : Studi Terhadap Gambaran Mikroskopis
Ginjal dan Kadar Kreatinin**

*SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF VALERIAN EXTRACT ON WISTAR RAT :
Study of Renal Microscopic Appearance and Creatinine Concentration*

ARTIKEL ILMIAH

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai derajat sarjana strata-1 kedokteran umum**

**ANDINA FITRIANA MANGGARWATI
G2A006015**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
TAHUN 2010**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK VALERIAN PADA TIKUS
WISTAR : Studi Terhadap Gambaran Mikroskopis Ginjal dan Kadar
Kreatinin**

Andina Fitriana Manggarwati¹, Neni Susilaningsih²

ABSTRAK

Latar belakang: Valerian (*Valeriana officinalis*) merupakan herbal dengan efek sedatif yang banyak digunakan dalam mengatasi gangguan tidur. Valerian diekskresi melalui ginjal, padahal kandungan Cd dan Pb-nya bersifat nefrotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya efek pemberian valerian secara subkronis terhadap gambaran mikroskopis ginjal dan kadar kreatinin.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *Pre and Post Test Controlled Group Design* dan *Post Test Only Controlled Group Design* ini menggunakan 20 ekor tikus wistar jantan, dibagi menjadi 4 kelompok secara random, yaitu (K) diberi akuades, dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberi valerian dengan dosis masing-masing 9 ; 18 ;36 mg/tikus lewat sonde lambung sekali sehari selama 3 bulan. Awal dan akhir perlakuan, tikus diambil darahnya. Akhir bulan ke-3 tikus diterminasi untuk diamati gambaran histopatologinya. Data mikroskopis, delta kreatinin pre dan post, data kreatinin post antar kelompok dianalisis dengan uji *One-Way* Anova. Untuk data mikroskopis ginjal dilanjutkan Uji *Post-Hoc*.

Hasil: Terdapat perbedaan bermakna pada pengamatan gambaran mikroskopis ginjal antar kelompok yaitu; K-P1 $p = 0.001$, K-P2,P3, P1-P3 $p = 0.000$, dan P2-P3 $p = 0.006$. Namun, tidak didapatkan adanya perbedaan gambaran mikroskopis yang bermakna antara P1-P2 dengan $p = 0.054$. Tidak didapatkan perbedaan bermakna pada delta kadar kreatinin pre dan post dengan $p = 0.693$, dan juga pada kadar kreatinin post antar kelompok dengan $p = 0.370$

Kesimpulan: Pemberian ekstrak Valerian secara subkronis memberikan efek terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar. Kerusakan mikroskopis ginjal masih bersifat minimal berupa penyempitan tubulus. Tidak terdapat efek terhadap kadar kreatinin tikus wistar.

Kata Kunci: Valerian, gambaran mikroskopis ginjal, kadar kreatinin

¹ Mahasiswa Fakultas Kedokteran Undip, Semarang

² Staf Pengajar, Histologi Fakultas Kedokteran Undip, Semarang

**SUBCHRONIC TOXICITY TEST OF VALERIAN EXTRACT ON
WISTAR RAT : Study of Renal Microscopic Appearance and Creatinine
Concentration**

ABSTRACT

Background: Valerian (*Valeriana officinalis*) is a herbal medicine that has sedative effects which are now widely used to solve sleep disturbances. Valerian is excreted by the kidney, whereas it contains Cd and Pb which are nephrotoxic. The aim of this study was to analyze whether there is any effect on renal microscopic appearances and creatinine concentration after subchronic treatment of valerian.

Method: This research was an experimental study using the pre and post test controlled group design and the post test only controlled group design. The samples were 20 male wistar rats, randomly divided into four groups. One control group was given aquadest, and three treatment groups (P1, P2, P3) were each given a dose of valerian 9; 18; 36 mg / rat through a stomach sonde once a day for three months. At the time before and the end of treatment, rat's blood were taken. In third month, the rats were terminated to observe their histopathologic appearances. Microscopic data, delta pre and post test creatinine, and post test creatinine concentration between groups were analyzed using One-Way Anova. Microscopic data followed by Post-Hoc Test.

Result: There were significant differences in renal microscopic appearances among groups, between: K-P1 with $p = 0.001$, K-P2, P3, P1-P3 with $p = 0.000$, and P2-P3 with $p = 0.006$. However, there were no significant differences in renal microscopic appearances between P1-P2 with $p = 0.054$. There were no significant differences in pre and post creatinine concentration with $p = 0.693$, and in post test creatinine concentration among groups with $p = 0.370$.

Conclusion : Subchronic treatment of valerian extract affect renal microscopic appearance in which renal damage is still minimal microscopic form of renal tubular narrowing, but no effect on creatinine concentration.

Keywords: Valerian, renal microscopic appearances, creatinine concentration

PENDAHULUAN

Akhir-akhir ini penggunaan tanaman obat sebagai alternatif dalam pengobatan semakin banyak dipertimbangkan di dalam masyarakat, sehingga diperlukan penelitian untuk membuktikan khasiat tanaman obat tersebut. Tanaman alami berkhasiat sebagai kekayaan alam yang belum banyak digali dan dikembangkan secara mendalam, masih terbuka untuk diteliti untuk menemukan obat- obat yang efektif dalam mengobati suatu penyakit, relatif tidak toksik dan menyempurnakan terapi sebelumnya. Sehingga sebelum digali lebih jauh tentang manfaat dari tanaman herba tersebut terlebih dahulu diperlukan uji toksisitas untuk mengetahui berbagai efek samping yang mungkin ditimbulkan.^{1,2} Valerian (*Valeriana officinalis* L) merupakan salah satu tanaman berkhasiat tersebut.³

Tanaman obat valerian telah dikenal lama sejak zaman Yunani kuno dan Romawi kuno. Ekstrak valerian memiliki spektrum yang cukup luas dalam penggunaannya. Kegunaan utama dari valerian adalah sebagai obat penenang/transquilizer bagi orang- orang dengan hipereksitabilitas. Kegunaan yang kedua adalah sebagai agen pelemas otot polos. Aksi obat ini banyak digunakan dalam pengobatan kram usus dan lambung. Valerian juga menjadi salah satu campuran herba yang banyak digunakan dalam pengobatan gangguan tidur.³ Berdasarkan sebuah literatur, dalam suatu studi menggunakan spektrometri atomik , didapatkan bahwa valerian mengandung kadar Pb sekitar 10-100 mg/ kg, sedangkan kadar Cd mencapai 0,0125 mg/ kg. Sebagian metabolitnya akan diekskresi melalui ginjal.⁴ Pada penelitian sebelumnya tentang uji toksisitas akut valerian terhadap ginjal, didapatkan hasil valerian berdampak pada kondisi mikroskopis ginjal berupa adanya pembengkakan epitel tubulus proksimal sehingga terjadi penyempitan tubulus, dimana perubahannya cenderung meningkat pada tiap kenaikan dosis.⁵

Keadaan homeostasis dari tubuh manusia salah satunya dipertahankan oleh fungsi ginjal yang baik. Fungsi ini meliputi ekskresi dari metabolit sisa, sintesis dan pengeluaran hormone renin dan eritropoetin, serta regulasi cairan ekstraseluler, komposisi elektrolit dan keseimbangan asam basa. Jalannya fungsi

ginjal tersebut dapat terganggu akibat kerusakan komponennya. Salah satu penyebabnya adalah toksin berupa logam berat. ⁶ Dimana diketahui dari literatur bahwa valerian mengandung logam berat berupa Pb dan Cd dalam kadar yang cukup signifikan.⁴ Adanya logam berat tersebut dapat menimbulkan kerusakan struktur pada nefron terutama pada sel epitel tubulus proksimal. Hal ini dapat disertai dengan gangguan fungsi ginjal yang umumnya ditandai dengan penurunan laju filtrasi glomerulus, sehingga zat sisa metabolisme seperti kreatinin, ureum maupun asam urat yang harusnya dibuang oleh ginjal kadarnya akan menurun dalam urin, akibatnya kadar zat tersebut akan meningkat dalam darah.^{7,8}

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan gambaran mikroskopis ginjal dan kadar kreatinin tikus wistar setelah pemberian ekstrak valerian secara subkronis. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengidentifikasi gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar setelah pemberian ekstrak valerian dosis bertingkat secara subkronis, menganalisis perbedaan gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, menganalisis perbedaan peningkatan kadar kreatinin tikus wistar pada pemberian ekstrak valerian dosis bertingkat secara subkronis, dan menganalisis perbedaan kadar kreatinin tikus wistar setelah pemberian ekstrak valerian dosis bertingkat secara subkronis antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorik dengan desain yang dipakai adalah *Pre and Post Test Only Control Group Design* untuk variabel kadar kreatinin tikus wistar dan *Post Test Only Control Group Design* untuk variabel gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar. Populasi penelitian ini adalah tikus wistar jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 200 – 300 gram, yang diperoleh dari Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Yogyakarta. Sampel penelitian diambil secara random dari populasi. Besar sampel ditentukan berdasarkan kriteria WHO, yaitu minimal lima ekor untuk setiap kelompok.⁹

Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus wistar yang dibagi dalam empat kelompok. Masing – masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus yang ditentukan

secara acak kemudian diaklimatisasi selama 7 hari. Pada hari ke-1 dilakukan pengambilan sampel darah tikus untuk pengukuran kadar kreatinin *pre test*. Kelompok kontrol hanya diberi aquades, kelompok perlakuan (P1,P2,P3) diberi ekstrak valerian per oral melalui sonde dengan dosis masing-masing 9, 18 dan 36 mg/tikus selama 3 bulan. Pada akhir bulan ke-3 penelitian dilakukan pengambilan sampel darah tikus untuk pengukuran kadar kreatinin *post test* dilanjutkan terminasi untuk pembuatan dan pemeriksaan preparat mikroskopis ginjal tikus.

Gambaran histologis ginjal tikus wistar dilakukan pengecatan dengan hematoxilil eosin, dan diamati jumlah kerusakan tubulus kontortus proksimal tiap seratus tubulus dalam lima lapangan pandang dilihat pada lima area yaitu keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran empat ratus kali. Pengukuran derajat kerusakan tubulus dilihat dengan adanya : penyempitan tubulus kontortus proksimal, nekrosis epitel tubulus kontortus proksimal, dan adanya hialin cast. Kadar kreatinin yang diukur dari darah ekor tikus wistar diperiksa dengan metode enzimatik dan kolorimetrik menggunakan Cobas Integra 400 Plus-Roche secara otomatis.

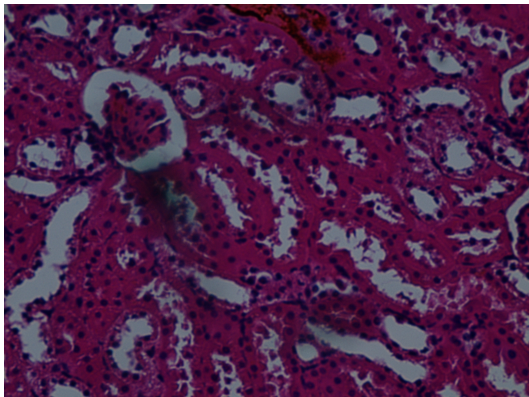
Data yang diambil adalah data primer yaitu dari pembacaan mikroskopis ginjal dan pengukuran kadar kreatinin, kemudian akan diolah dengan program *computer SPSS for Windows*. Uji *One Way Anova* digunakan untuk menganalisis gambaran mikroskopis ginjal, kadar kreatinin post test dan delta kreatinin. Variabel gambaran mikroskopis ginjal dilanjutkan dengan Analisis *Post Hoc*. Uji *Kruskall Wallis* digunakan untuk menganalisis kadar kreatinin pre test.

HASIL

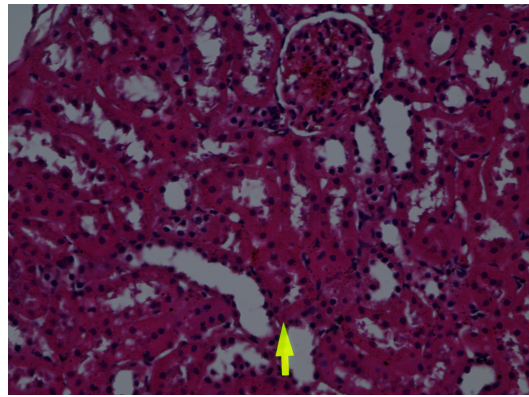
Data yang diperoleh dari pengamatan mikroskopis ginjal adalah data numerik dengan sebaran data normal dan homogen. Deskripsi data tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Deskriptif Pengamatan Mikroskopis Ginjal Tiap Kelompok

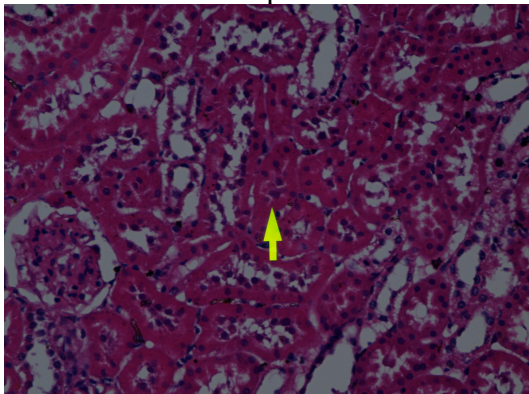
Kelompok	Rerata	Simpang Baku
K	18,2	3,96
P1	27,8	2,95
P2	32,4	2,97
P3	39,4	3,97



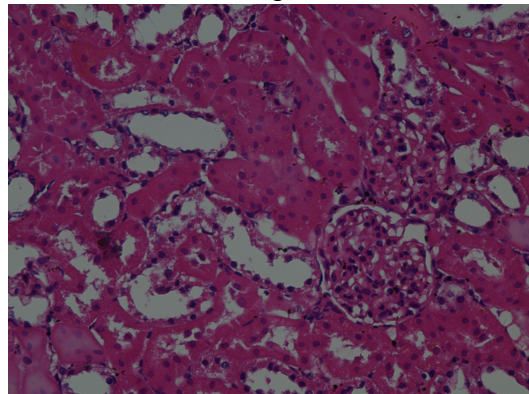
Gambaran mikroskopis TC I Kontrol



Gambaran mikroskopis TC I Perlakuan 1



Gambaran mikroskopis TC I Perlakuan 2



Gambaran mikroskopis TC I Perlakuan 3

Data gambaran mikroskopis ginjal yang merupakan skala rasio dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan distribusi normal. *Test homogeneity of variances* data gambaran mikroskopis ginjal didapatkan varian

data yang sama, maka dapat dilanjutkan uji hipotesis parametric *One Way Anova* didapatkan nilai $p=0.000$ yang berarti paling tidak terdapat perbedaan perubahan gambaran mikroskopis ginjal secara bermakna pada dua kelompok. Hasil uji *Post Hoc* untuk menilai perbedaan antar kelompok dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai p pada uji *Post Hoc* Gambaran Mikroskopis antar kelompok

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Perlakuan 1	0.001*		0.054	0.000*
Perlakuan 2	0.000*	0.054		0.006*
Perlakuan 3	0.000*	0.000*	0.006*	

*ada perbedaan bermakna ($p < 0.05$)

Data yang diperoleh dari pengamatan kadar kreatinin pre adalah data numeric dengan sebaran data tidak normal. Deskripsi data yang digunakan tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Data Deskriptif Kadar Kreatinin Pre Test

Kelompok	Median	Maksimum	Minimum
K	0,26	0,29	0,23
P1	0,30	0,50	0,26
P2	0,24	0,38	0,22
P3	0,24	0,34	0,30

Data kadar kreatinin pre test tiap kelompok dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan distribusi data tidak normal dengan nilai $p = 0.002$. Sehingga kemudian dilanjutkan dengan uji hipotesis non parametric *Kruskal Wallis* dan didapatkan nilai $p = 0.449$ yang berarti tidak didapatkan perbedaan kadar kreatinin pre test secara bermakna antar kelompok.

Data yang diperoleh dari pengamatan kadar kreatinin post adalah data numeric dengan sebaran data normal dan homogen. Deskripsi data tercantum pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Deskriptif Kadar Kreatinin Post Test

Kelompok	Rerata	Simpang Baku
K	0,324	0,018

P1	0,342	0,038
P2	0,344	0,047
P3	0,304	0,047

Data kadar kreatinin post test dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan distribusi data normal pada masing- masing kelompok, dengan nilai $p = 0.663$. *Test homogeneity of variances* rerata kadar kreatinin post test didapatkan varian data yang sama, maka dilanjutkan uji *One Way Anova* didapatkan nilai $p = 0.370$ yang berarti tidak terdapat perbedaan kadar kreatinin post test secara bermakna antar kelompok.

Delta kadar kreatinin pre test dan post test dilakukan uji normalitas dengan *ShapiroWilk* dan didapatkan sebaran data normal dengan $p = 0.102$. *Test homogeneity of variances* rerata delta kreatinin didapatkan varian data yang sama, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* didapatkan nilai $p = 0.693$ yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna peningkatan (delta) kadar kreatinin tikus wistar pada pemberian ekstrak valerian dosis bertingkat secara subkronis.

PEMBAHASAN

Fungsi utama dari ginjal adalah organ eliminasi penting bagi tubuh. Meskipun terdapat banyak faktor yang mempengaruhi kerentanan ginjal terhadap efek toksik, tetapi tingginya aliran curah jantung dan peningkatan konsentrasi produk ekskresi karena adanya reabsorpsi air dari cairan tubuler merupakan faktor terpenting. Akibatnya, beberapa obat atau zat kimia yang beredar dalam sirkulasi sistemik akan dibawa ke ginjal dalam kadar yang cukup tinggi. Sebagai akibatnya akan terjadi proses perubahan struktur dari ginjal itu sendiri, terutama di tubulus ginjal karena disinilah terjadi proses reabsorpsi dan eksresi dari zat- zat toksik tersebut.^{6,10,11} Salah satu manifestasi yang sering ditemukan akibat zat nefrotoksik dalam ginjal adalah gagal ginjal akut terutama dalam bentuk nekrosis tubular akut (NTA). Adanya kerusakan dalam tubulus ginjal akibat zat nefrotoksik ini dilihat dengan adanya: penyempitan tubulus kontortus proksimal, nekrosis sel epitel tubulus kontortus proksimal, adanya hialin cast di tubulus distal.^{6,7,12,13}

Hasil pengamatan mikroskopis ginjal dalam penelitian ini didapatkan kerusakan minimal yang berupa penyempitan tubulus saja, sedangkan nekrosis sel epitel tubulus dan hialin cast tidak ditemukan. Oleh karena itu, dalam proses pengambilan data, adanya kerusakan dalam tubulus ginjal hanya dilihat dari jumlah tubulus yang menyempit/ bahkan menutup yang dihitung per 100 tubulus dalam 5 lapangan pandang.

Hasil penelitian valerian pada hewan coba menunjukkan bahwa pemberian valerian secara subkronis memberikan perubahan histopatologis bermakna terhadap gambaran mikroskopis ginjal. Perubahan bermakna ini terjadi antar tiap kelompok, kecuali antara P1 dengan P2 yang ditunjukkan dengan nilai $p= 0.054$ ($p> 0.05$).

Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan bahwa pemberian valerian secara akut tidak memberikan dampak pada gambaran makroskopis ginjal tetapi memberikan perubahan bermakna pada gambaran mikroskopis ginjal mencit balb/c. Perubahan mikroskopis berupa adanya pembengkakan epitel tubulus proksimal sehingga terjadi penyempitan tubulus, dimana perubahannya cenderung meningkat pada tiap kenaikan dosis.⁵

Perubahan bermakna secara mikroskopis pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh; 1) setiap zat larut dalam air yang diekskresikan melalui ginjal (Cd, Pb, Ca yang terdapat pada Valerian) memiliki potensi untuk mengganggu kenormalan epitel tubulus^{7,12} dan 2) dalam pustaka disebutkan kandungan logam berat pada Valerian berupa Cd mencapai 0.0125mg/kg -yang diketahui bersifat nefrotoksik^{23,31} - dapat memberikan efek terhadap gambaran tubulus kontortus proksimal yang ditandai dengan pembengkakan epitel tubulus sehingga terjadi penyempitan tubulus. Penyempitan tubulus ini dapat menjadi suatu tanda awal kerusakan ginjal akibat substansi nefrotoksik dalam darah¹² Pemeliharaan integritas tubular tergantung pada adesi sel-sel dan adesi sel-matrik. Hal inilah yang mendasari bahwa setelah terjadi paparan dengan zat nefrotoksik maka adesi sel non letal mengalami kerusakan, apoptosis dan onkotik sel terhadap membrane basemen menjadi terganggu, yang kemudian berakibat terbentuknya gap/ celah pada garis epithelial sel dan berpotensi menjadi penurunan GFR. Sel yang

rusak ini kemudian akan beragregasi di lumen tubulus dan saling menempel satu sama lain sehingga menimbulkan obstruksi tubular.⁶

Hasil penelitian tentang kreatinin didapatkan bahwa pemberian ekstrak valerian secara subkronis tidak berpengaruh secara bermakna terhadap kadar kreatinin tikus wistar. Hasil analisis kadar kreatinin pre test antar kelompok dengan Uji *Kruskall Wallis* didapatkan bahwa pemberian valerian secara subkronis pada hewan coba tidak menimbulkan perbedaan kadar kreatinin pre test secara bermakna antar kelompok dengan nilai $p = 0.449$. Hasil yang sama juga didapatkan pada analisis kadar kreatinin post test antar kelompok dengan uji *One way Anova* dengan hasil $p = 0.370$ yang berarti tidak terdapat perbedaan kadar kreatinin post test secara bermakna antar kelompok.

Hasil analisis peningkatan (delta) kadar kreatinin pre test dan post test dengan Uji *One Way Anova* didapatkan bahwa peningkatan kadar kreatinin setelah perlakuan tidak berbeda bermakna dengan kadar kreatinin sebelum perlakuan dengan ditunjukkan oleh nilai $p = 0.693$. Hal ini dapat dijelaskan bahwa meskipun dulunya kreatinin dianggap sebagai marker endogen terbaik dalam menilai klirens ginjal tetapi peningkatan kadar kreatinin maupun BUN secara bermakna sebagai marker untuk mengukur klirens ginjal hanya dapat terjadi jika fungsi ginjal sudah mengalami penurunan sekitar 50 – 70 %, sedangkan pemberian ekstrak valerian memiliki efek toksik terhadap ginjal berupa degenerasi albumin yaitu akumulasi protein yang sifatnya ringan atau reversibel.^{6,7}

Penelitian sebelumnya dalam sebuah jurnal menyebutkan bahwa penggunaan serum kreatinin sebagai biomarker mengukur fungsi ginjal merupakan *delayed marker* yang bersifat nonspesifik dan tidak sensitif dalam mendiagnosis dini terjadinya gagal ginjal akut (saat ginjal belum mengalami kematian sel berupa apoptosis maupun nekrosis). Biomarker yang dapat digunakan pada tahap awal antara lain : Cystatin C, Microalbumin, NAG,^{16,17} sedangkan pada penelitian ini kerusakan ginjal yang terjadi masih minimal, yang ditunjukkan dengan gambaran mikroskopis dengan derajat kerusakan minimal berupa penyempitan tubulus saja, tidak ditemukan nekrosis inti sel epitel tubulus maupun apoptosis dan tidak ditemukan *hyalin cast*. Bahkan tidak didapatkan

perbedaan kadar kreatinin yang bermakna antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Tes kreatinin serum secara tunggal kurang akurat untuk memprediksi klirens ginjal karena kreatinin selain difiltrasi bebas oleh glomerulus juga disekresi oleh tubulus proksimal. Kadar kreatinin dalam darah dipengaruhi oleh faktor- faktor tertentu dalam darah(kromogen non kreatinin), perubahan massa otot, dan proses inflamasi, sehingga diperlukan penetapan-penetapan dan observasi serial untuk mengecek akurasi dan perkembangan penyakitnya.^{12,16}

SIMPULAN dan SARAN

Pemberian ekstrak Valerian secara subkronis memberikan efek terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus wistar. Kerusakan mikroskopis ginjal masih bersifat minimal berupa penyempitan tubulus. Tidak terdapat efek terhadap kadar kreatinin tikus wistar.

Penelitian serupa dapat dilakukan untuk mencari biomarker yang lebih sensitif dan lebih spesifik dalam menggambarkan fungsi ginjal, misalnya : Cystatin-C, microalbumin, KIM-1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Jamu Borobudur, dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, Ph.D dan dr.Ika Pawitra Miranti, M.Kes, Sp.PA yang telah mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Katno, Pramono S. Tingkat manfaat dan keamanan tanaman obat dan obat tradisional. [homepage on the Internet]. [cited 2010 January 19]. Available from: http://Cintaialam.tripod.com/keamanan_obat%20tradisional.pdf.
2. Harmanto N, Subroto MA. Herbal dan jamu (pengaruh dan efek sampingnya). [homepage on the Internet]. [updated 2007 August 3; cited 2010 January 19]. Available from

http://elexmedia.co.id/pdf/EMK170070522_pilihjamudanherbaltanpaefeksamping.pdf

3. Kobus Z. Dry matter extraction from valerian roots (*Valeriana officinalis* L.) with the help of pulsed acoustic field. *Int Agrophysics*. 2008; 22:133-7.
4. Arce S, Cerutti S, Olsina R, Gomez MR, Martinez LD. Determination of metal content in valerian root phytopharmaceutical derivatives by atomic spectrometry. *J AOAC Int*. 2005 Jan- Feb ;88 (1):221-5.
5. Al Munawar NM. Uji toksisitas akut valerian (*Valeriana officinalis*) terhadap ginjal mencit balb/c. Skripsi/Karya Tulis Ilmiah S-1. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro; 2009.
6. Schnellmann RG. Toxic responses of the kidney. In: Klassen CD. Casarett and doull's toxicology the basic science of poisons. 6th ed. Kansas: McGraw Hill; 2001. p. 491-510.
7. Wijaya I, Miranti IP. Patologi ginjal dan saluran kemih. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro; 2005.
8. Widmann FK. Tinjauan klinis atas hasil pemeriksaan laboratorium. 3rd ed. Jakarta: EGC; 1995. p.257.
9. World Health Organization. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicine. Manilla: Reg office for the Western pacific; 1993. p 31-41.
10. Hodgson E, editor. A textbook of modern toxicology. 3rd ed. North Carolina State University: Wiley Interscience; 2004. p.273-275.
11. Price AS, Wilson LM, Hartanto H, Susi N, Wulansari P, Mahanani DA, editor. Patofisiologi konsep klinis proses – proses penyakit. Edisi 6. Jakarta: EGC; 2006.
12. Underwood JCE, Sarjadi, editor. Patologi umum dan sistemik. Vol.2. Edisi 2. Jakarta: EGC; 2000.
13. Alpers CE, Fogo AB. The kidney and its collecting system. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. Robbins Basic Pathology. 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 1997.
14. Guyton, Arthur C, John E H. Setiawan I, editor. Fisiologi kedokteran. Edisi 9. Jakarta: EGC; 1997.
15. Jarup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. Health effects of cadmium exposure- a review of the literature and risk estimate. *Scand J Work Environ Health* ; 1998. 24 (Suppl 1). 1-51 [Medline].
16. Sennang N, Sulina, Badji A, Hardjoeno. Laju filtrasi glomerulus pada orang dewasa berdasarkan tes klirens kreatinin menggunakan persamaan cockroftgault dan modification of diet in renal disease. *J Med Nus Vol.24* No.2. April- June 2005.

17. Vishal S, Vaidya, Michael A, Ferguson, Joseph V, Bonventre. Biomarkers of Acute Kidney Injury. [Annu Rev Pharmacol Toxicol](#). 2008;48:463-93.