

# **ANALISIS ION MINERAL URIN HEWAN MODEL NEFROLITIASIS DENGAN PERLAKUAN EKSTRAK DAUN ALPUKAT DAN KUMIS KUCING**

*Analysis of urine mineral Levels in Nephrolithiasis Animal Model That  
Treatment by Avocado and Cat Whiskers Leaf Extract*

**Rini Madyastuti, Ietje Wientarsih**

Staf Pengajar Divisi Farmasi Veteriner Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi Veteriner,  
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

## **ABSTRACT**

*Avocado plants (*Persea americana* Mill.) and cat whisker plants (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) are among many of the herbal plants empirically believed to prevent kidney stone problems. This study was aimed to determine the effect of avocado leaf extract and cat whisker extract on calcium levels and magnesium levels in urine. Forty two male white rats Sprague Dawley strains were used in this study. The rats were then divided into 7 groups, each group consisting of 5 rats. The groups were P1 (normal control), P2 (negative control), P3 (positive control), P4 (avocado leaf extract), P5 (cat whiskers leaf extract), P6 (combinations of avocado leaf extract 300 mg/kgBB and cat whiskers plant extract 250 mg/kgBB), and P7 (combination of avocado leaf extract 600 mg/kgBB and cat whiskers plant extract 500 mg/kgBB). This treatment was performed for 28 days and urine analysis was performed on the 14 days and 26 days using Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS). This result showed that extract combination in single doses (P6) and extract combination in larger doses (P7) gave the best decay as indicated by highly decreasing in the mean value of calcium 77% and 83% followed by decreasing in the mean value of magnesium 84% and 71%. The combination of extracts have activities that were able to prevent on urine calcium oxalate saturation and reduce the possibility of urine crystal formation.*

*Keywords: nefrolithiasis, calcium, magnesium, *Persea americana* Mill, *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq.*

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Batu ginjal merupakan penyakit kedua tertinggi didunia dari semua kasus penyakit saluran urinaria pada hewan kesayangan seperti anjing dan kucing (Sparkes dan Philippe 2008). Urolitiasis merupakan suatu kondisi dalam saluran kemih dengan *urolith* berupa kristal yang mengendap di dalam urin (Mehmed dan Ender 2015). Kasus urolitiasis yang terjadi pada anjing dan kucing merupakan masalah utama dalam bidang praktisi veteriner (Ross 2005). Menurut Albasan *et al.* (2009), jumlah kasus urolitiasis pada anjing sebesar 43% dan kucing 70.4% dengan tingkat keterulangan yang cukup tinggi sekitar 48-57%. Studi epidemiologis tahun 2010-2012 kasus urolitiasis di Indonesia mengalami kenaikan dari 8.6% menjadi 48.6 % (Tondok *et al.* 2014).

Kejadian urolitiasis pada manusia dan hewan banyak dilaporkan, namun jarang ditemui pada kucing, terutama kucing betina. Ras kucing Himalayan dan Persian merupakan kucing yang paling sering mengalami *urolith* karena penumpukan kristal struvite. Pada anjing berukuran kecil sampai medium, seperti Miniature Schnauzer, Lhasa Apso, Yorkshire Terrier, Miniature Poodle, Shih Tzu, dan Bichon Frise, kristal struvite dan kalsium oksalat merupakan penyebab *urolith* yang paling sering terbentuk sedangkan anjing Dalmatian adalah ras anjing yang memiliki faktor predisposisi terbentuknya *urolith* karena penumpukan kristal asam urat (Houston 2007).

Proses pembentukan batu ginjal diawali dengan pembentukan inti dalam kondisi supersaturasi, presipitasi-kristalisasi, dan kurangnya faktor inhibitor (Madyastutit *et al.* 2015). Supersaturasi merupakan kondisi urin yang mengandung ion penyusun batuan ginjal dalam jumlah berlebih dengan kandungan mineral yaitu kalsium, oksalat, dan fosfat. Kristal yang paling sering ditemukan adalah kalsium oksalat (CaOx) dengan presentase kejadian 46.3% dan magnesium amonium fosfat (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>) sebanyak 42.4%. Kalsium memiliki peranan sebagai promotor dalam proses urolitiasis sedangkan magnesium sebagai inhibitor. Partikel yang telah mengkristal setelah pengendapan dapat bertambah besar ukurannya dan menimbulkan gejala klinis (Gipson 1996). Gejala klinis tersebut dapat berupa disuria, stranguria, dan pembesaran kandung kemih (Apritya *et al.* 2017).

Saat ini penanganan urolitiasis menggunakan teknik-teknik pembedahan seperti shockwave, lithotripsy, ureteroscopy, dan ekstraksi batu perkutan dimana teknik-teknik ini memiliki kerugian seperti cedera ginjal dan keterulangan kembali sebesar 50% di atas 10 tahun (Sasikumar *et al.* 2014). Penggunaan obat tradisional sangat dianjurkan karena mempunyai efek samping yang lebih kecil dibandingkan penggunaan pengobatan kimiawi (Santi *et al.* 2018).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi dalam upaya memelihara kesehatan secara empiris adalah tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) dan tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq). Tanaman alpukat

(*Persea americana* Mill) secara empiris banyak digunakan sebagai pelancar pengeluaran urin dan penghancur batu di saluran kemih. Bagian yang digunakan untuk ramuan tradisional adalah daun karena mengandung gula, d-persit, flavonoid, kuersetin, dan senyawa sterin (Wientarsih *et al.* 2014). Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq) digunakan untuk mengobati rematik, nyeri perut, inflamasi ginjal dan kandung kemih, edema, dan gout. Berdasarkan penelitian sebelumnya, tanaman kumis kucing memperlihatkan efek antioksidan, antibakteri, hepatoprotektif, anti-inflamasi, sitotoksik, diuretik, antihipertensi, dan vasodilatasi (Basheer *et al.* 2010).

### **Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar mineral Ca dan Mg urin sebagai inhibitor dalam hewan model nefrolitiasis dengan perlakuan ekstrak daun alpukat dan kumis kucing.

### **Manfaat**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan kombinasi ekstrak daun alpukat dan kumis kucing dalam mencegah nefrolitiasis melalui pengukuran kadar mineral Ca dan Mg dalam urin.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan dan Laboratorium Nutrisi, Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, IPB University mulai bulan Desember 2018 sampai Januari 2019. Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahap, yaitu tahap persiapan dan pelaksanaan. Tahap persiapan meliputi pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak daun alpukat, pembuatan ekstrak daun kumis kucing, persiapan kandang, pakan dan hewan percobaan sedangkan tahap pelaksanaan meliputi perlakuan, pengamatan dan analisis data.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah beaker glass, termometer, sonde oral tikus, kandang tikus, syringe, tabung eppendorf, instrumen *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS), mikropipet, gelas ukur, tabung reaksi, timbangan analitik, erlenmeyer ukuran 125 mL/100 mL, ruang asam, hot plate, pipet mohr, labu takar 50 mL/100 mL, corong kaca dan kertas saring. Hewan coba yang

digunakan adalah tikus putih galur Sprague Dawley dengan jenis kelamin jantan. Bahan yang digunakan adalah daun alpukat, kumis kucing, sediaan komersil, etanol 70 %, akuadest, amoniak, etilen glikol 0.75 %, amonium klorida 2 %, eter, akuadest, HNO<sub>3</sub> 65 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 95-98%, HClO<sub>4</sub> 85% dan HCl 37%.

### **Determinasi dan Pengumpulan Daun Alpukat dan Kumis Kucing**

Daun alpukat dan daun kumis kucing diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) dan dilakukan determinasi daun alpukat dan kumis kucing di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

### **Pembuatan Ekstrak Daun Alpukat dan Kumis Kucing**

Pembuatan ekstrak diawali dengan pembuatan serbuk simplisia tanaman alpukat dan kumis kucing. Daun alpukat yang digunakan adalah daun posisi tengah dan tidak terlalu tua. Bagian ini memiliki kandungan bahan obat yang lebih tinggi dibandingkan bagian yang lain. Kandungan kimia yang terdapat pada daun alpukat antara lain adalah saponin, alkaloid, tanin, flavonoid, polifenol, dan kuersetin (Raul *et al.* 2017). Daun alpukat dibersihkan dengan air yang mengalir hingga bersih dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia kering daun alpukat diserbuk dan diayak dengan ayakan mesh 16 sehingga diperoleh serbuk daun alpukat lalu serbuk disimpan dalam wadah bersih dan ditutup rapat.

Serbuk tanaman kumis kucing dibuat dengan mensortasi bahan segar kemudian ditimbang dan dicuci bersih dengan air mengalir sebanyak dua kali, selanjutnya dilakukan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan dua metode yaitu pengeringan matahari dan oven. Pengeringan dengan dijemur secara langsung di bawah sinar matahari selama 2-3 hari serta dibolak-balik setiap 4 jam sekali agar pengeringan yang dihasilkan lebih merata, sedangkan pengeringan oven dilakukan pada suhu 50 °C selama 3-4 jam. Pembuatan simplisia dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO).

Pembuatan ekstrak daun alpukat dan kumis kucing dilakukan dengan menambahkan etanol 70 % ke dalam serbuk tanaman. Perbandingan jumlah pelarut dengan serbuk adalah 1 : 10, direndam selama 2 x 24 jam dan sesekali diaduk kemudian ditampung dalam suatu wadah dengan selalu mengganti pelarut tiap hari. Hasil dari maserasi berupa ekstrak tanaman alpukat dan tanaman kumis kucing yang kemudian dilakukan evaporasi dengan alat rotary evaporator (40 °C dan 50 rpm) untuk menguapkan pelarutnya sehingga didapatkan ekstrak kental dari tanaman alpukat dan tanaman kumis kucing (Ditjen POM 2000).

### **Induksi hewan coba**

Induksi kristalisasi pada hewan coba tikus dilakukan dengan menggunakan etilen glikol dan amonium klorida. Konsentrasi induser yang digunakan adalah larutan 0.75 % etilen glikol dan 2 % amonium klorida. Pemberian induser dicampur dalam air minum dan diberikan *ad libitum* selama 28 hari.

## Desain Penelitian

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dengan nomor 095/KEH/SKE/VIII/2018 oleh komisi etik hewan Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Aktivitas penghambatan batu ginjal oleh sediaan komersil, ekstrak daun alpukat dan kumis kucing ini dilakukan dengan menggunakan tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*. Penelitian ini menggunakan 35 tikus sehat dengan berat badan sekitar 200 gram hingga 300 gram yang terbagi dalam 7 kelompok dan masing-masing kelompok 5 tikus, yaitu:

1. Kelompok kontrol normal (P1) : tikus diberi air minum normal *ad libitum*.
2. Kelompok kontrol negatif (P2) : tikus diberi induser.
3. Kelompok kontrol positif (P3) : tikus diberi induser dan dicekok dengan sediaan komersil.
4. Kelompok perlakuan 4 (P4) : tikus diberi induser dan dicekok ekstrak daun alpukat dosis 300 mg/kgBB.
5. Kelompok perlakuan 5 (P5) : tikus diberi induser dan dicekok ekstrak tanaman kumis kucing dosis 250 mg/kgBB.
6. Kelompok perlakuan 6 (P6) : tikus diberi induser dan dicekok campuran kombinasi ekstrak daun alpukat dosis 300 mg/kgBB dan ekstrak tanaman kumis kucing dosis 250 mg/kgBB.
7. Kelompok perlakuan 7 (P7) : tikus diberi induser dan dicekok campuran kombinasi ekstrak daun alpukat dosis 600 mg/ kg BB dan ekstrak tanaman kumis kucing dosis 500 mg/kgBB.

Dosis cekok sediaan komersil, ekstrak daun alpukat, dan ekstrak tanaman kumis kucing adalah 1 mL/200grBB dicekok menggunakan sonde lambung. Perlakuan dilakukan selama 28 hari dan pada hari ke-14 dan ke-26 dilakukan penampungan urin untuk analisis pengukuran kadar Ca dan Mg dengan menggunakan instrumen *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS).

## Metode Uji

Preparasi sampel urin diawali dengan tikus ditempatkan ke dalam kandang metabolisme kemudian urin yang diekskresikan selama 24 jam ditampung menggunakan tabung eppendorf. Sebanyak  $\pm 1$  mL urin dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 125 mL/100 mL selanjutnya sebanyak 5 mL HNO<sub>3</sub> (p) ditambahkan ke dalam tabung erlenmeyer tersebut lalu didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang di ruang asam. Tabung erlenmeyer yang berisi sampel tersebut dipanaskan di atas hot plate dengan temperatur rendah selama 4-6 jam (dalam ruang asam). Sampel ditutup dan dibiarkan selama 24 jam lalu sebanyak 0.4 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (p) ditambahkan pada sampel selanjutnya dipanaskan kembali di atas hot plate sampai larutan berkurang (lebih pekat) selama  $\pm 1$  jam.

Larutan campuran HClO<sub>4</sub> dan HNO<sub>3</sub> dengan perbandingan 2:1 ditambahkan ke dalam sampel sebanyak 2-3 tetes. Sampel masih tetap di atas hot plate, karena pemanasan terus dilanjutkan sampai ada perubahan warna dari cokelat menjadi kuning tua menjadi kuning muda selama  $\pm 1$  jam. Pemanasan dilanjutkan selama

10-15 menit. Sampel dipindahkan dan didinginkan setelah ada perubahan warna. Sebanyak 2 mL aquades dan 0.6 mL HCl (p) ditambahkan pada sampel tersebut. Sampel dipanaskan kembali agar sampel larut selama  $\pm$  15 menit. Sampel yang telah larut dimasukkan kedalam labu takar 100 mL. Jika ada endapan disaring dengan glass wool atau kertas saring. Hasil pengabuan basah dianalisis menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS).

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif melalui tabel dan diagram. Analisis data dilakukan dalam bentuk rata-rata  $\pm$  menggunakan uji *kruskal wallis* dilanjutkan dengan uji *mann whitney* dan diakhiri dengan uji *t-sample paired*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Mineral Ca dan Mg pada Analisis ke-1

Hasil analisis ke-1 kadar mineral Ca dan Mg pada hewan model nefrolitiasis dengan perlakuan ekstrak daun alpukat dan kumis kucing disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Analisis ke-1 nilai rata-rata kadar Ca dan Mg (ppm).

Perlakuan	Analisis ke-1	
	Kadar Ca (ppm)	Kadar Mg (ppm)
P1	73.19 <sup>e</sup>	233.04 <sup>b</sup>
P2	39.34 <sup>c</sup>	399.06 <sup>e</sup>
P3	30.15 <sup>b</sup>	164.76 <sup>a</sup>
P4	26.32 <sup>a</sup>	341.54 <sup>d</sup>
P5	53.78 <sup>d</sup>	264.95 <sup>c</sup>
P6	278.42 <sup>g</sup>	452.75 <sup>f</sup>
P7	220.71 <sup>f</sup>	836.86 <sup>g</sup>

Keterangan : Kolom yang diikuti dengan huruf berbeda memiliki pengaruh yang tidak sama secara signifikan pada taraf nyata  $P < 0.05$  setelah diuji dengan *Mann-Whitney*. Uji beda rata-rata setiap waktu pengamatan dilakukan dengan uji *t sample paired*.

Berdasarkan tabel 4.1, nilai rata-rata kadar kalsium dan magnesium pada kelompok P2 memiliki pengaruh yang signifikan berbeda terhadap kelompok P1 ( $P < 0.05$ ). Nilai rata-rata kalsium dan magnesium pada kelompok P3 memiliki nilai yang lebih rendah sebesar 30.15 ppm dan 164.76 ppm terhadap kelompok P2. Pada kelompok P4 dan P5 memiliki nilai rata-rata kadar kalsium yang signifikan berbeda terhadap kelompok P2 ( $P < 0.05$ ) sedangkan nilai rata-rata tersebut tidak jauh berbeda terhadap kelompok P3. Nilai rata-rata kadar magnesium pada kelompok P4 dan P5 tidak jauh berbeda dibandingkan kelompok P2 dengan nilai sebesar 341.54 ppm dan 264.95 ppm. Pada kelompok P6 dan P7 memberikan hasil peluruhan terbaik ditunjukkan dengan nilai kalsium urin yang tinggi yaitu

sebesar 278.42 ppm dan 220.71 ppm, begitu pula dengan nilai rata-rata magnesium pada kelompok P6 dan P7 memiliki hasil yang signifikan lebih tinggi dibandingkan perlakuan semua kelompok dengan nilai sebesar 452.72 ppm dan 836.96 ppm.

Kelompok P2 merupakan suatu perlakuan yang diinduksi oleh etilen glikol yang memicu kondisi hiperoksaluria kalsium. Hiperoksaluria adalah faktor risiko utama kalsium oksalat dan menyebabkan peningkatan saturasi kalsium oksalat dan pembentukan batu kalsium oksalat. Paparan oksalat terbukti beracun bagi sel-sel ginjal yang mengakibatkan peroksidasi lipid yang diperantarai oleh radikal bebas (Meimaridou *et al.* 2006). Etilen glikol sebagai agen nefrotoksik digunakan sebagai induser untuk menginduksi model nefrolitiasis kalsium oksalat. Metabolisme etilen glikol di hati diawali dengan pembentukan glikoaldehid dan asam glikolat oleh enzim alkohol dehidrogenase, selanjutnya asam glikosiklik dibentuk, dan akhirnya asam oksalat dibentuk. Asam oksalat berikatan dengan kalsium untuk membentuk kristal kalsium oksalat (Cox *et al.* 2004). Metabolisme etilen glikol dapat menyebabkan asidosis metabolik kronis dan nephrosis (Wientarsih *et al.* 2014).

Nilai rata-rata kadar kalsium kelompok P2 pada analisis ke-1 cenderung lebih rendah dibandingkan kelompok P1. Hal ini bisa diasumsikan bahwa perbedaan nilai rata-rata kadar kalsium dan magnesium yang berbeda-beda pada tiap tikus pada kelompok P2 dapat juga dikarenakan faktor genetik, respons fisiologis tiap tikus yang berbeda-beda dalam beradaptasi terhadap pemberian induser dan juga bisa disebabkan karena metabolisme etilen glikol yang belum sempurna dalam memicu kondisi metabolik asidosis. Metabolik asidosis menyebabkan manifestasi kimia urin karena penurunan pH urin, peningkatan ekskresi asam fosfat, dan peningkatan ekskresi amonium (Green *et al.* 2005). Amonium klorida dapat menginduksi metabolik asidosis sehingga ketika direaksikan dengan etilen glikol akan mempercepat proses terbentuknya kristal oksalat (Fan *et al.* 1997). Induksi kombinasi etilen glikol 0.75% dan amonium klorida 2% pada tikus putih selama 10 hari dapat menyebabkan terjadinya urolitiasis (Hardyanto 2013).

Nilai rata-rata kalsium kelompok P3 tidak jauh berbeda dengan nilai kelompok P2 sehingga sediaan tersebut bisa digunakan untuk meluruhkan komponen batu ginjal. Kelompok P3 (kontrol positif) merupakan suatu sediaan komersial yang mengandung ekstrak daun tempuyung (*Sonchus oleraceus*) dan ekstrak daun keji beling (*Strobilanthes crispus*). Ekstrak daun tempuyung dan ekstrak daun keji beling juga dapat menghancurkan batu saluran kemih sehingga mempermudah pengeluarannya dari dalam tubuh. Kadar kalium yang tinggi menyebabkan daun ini memiliki sifat sebagai diuretik, sehingga batu kristal yang menyumbat saluran dapat terdorong keluar (Anggraeni 2013).

Tabel 2. Total hasil flavonoid

Nama sampel	Identitas dan keadaan sampel	Parameter	Hasil
Ekstrak Daun Kumis Kucing	Ekstrak-Padatan	Total Flavonoid	0.06 % (b/b)
Ekstra Daun Alpukat	Ekstrak-Padatan	Total Flavonoid	0.05 % (b/b)

Pada kelompok P4 dan P5 memiliki pengaruh yang hampir sama seperti kelompok P3 dalam meluruhkan komponen batu ginjal. Berdasarkan tabel 4.2, ekstrak tunggal daun kumis kucing memberikan efek peluruhan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak daun alpukat karena memiliki kadar total flavonoid yang lebih tinggi dari ekstrak daun alpukat yaitu sebesar 0.06% total flavonoid ekstrak daun kumis kucing dan 0.05% total flavonoid ekstrak daun alpukat. Hal ini sesuai dengan penelitian Pratiwi *et al.* (2010) bahwa kandungan total flavonoid ekstrak daun kumis kucing adalah sebesar 103.9 mg/gr sedangkan kandungan total flavonoid ekstrak daun alpukat adalah sebesar 71.5 mg/gr (Zhang *et al.* 2009).

Senyawa metabolit flavonoid dari ekstrak daun alpukat dan daun kumis kucing dapat mencegah perlekatan kristal CaOx dan menghentikan proses selanjutnya dalam pembentukan batu ginjal. Semakin banyak kadar flavonoid, maka akan semakin besar peluruhannya terhadap kristal kalsium oksalat (Suharjo dan Cahyono 2009). Daya antioksidan yang cukup tinggi dapat mengikat radikal bebas yang dapat mengakibatkan perlukaan dan perubahan struktur membran sel. Faktor kesuksesan dalam pembentukan kristal adalah adanya interaksi kristal dengan sel yang mengalami perlukaan (Madyastuti 2015).

Efek status magnesium pada kasus nefrolitiasis menunjukkan penurunan kristalisasi CaOx karena laju pertumbuhan batu magnesium bersaing untuk mengikat oksalat dalam urin. Ketika kadar magnesium urin rendah maka akan terjadi peningkatan litogenesis. Magnesium urin umumnya dapat bersifat antilithogenik dalam sistem ginjal. Rasio magnesium dengan kalsium kadang-kadang digunakan sebagai perkiraan risiko batu, dengan rasio yang lebih tinggi menjadi lebih antilithogenik (Ramaswamy *et al.* 2015).

Kombinasi ekstrak dengan dosis bertingkat (P7) tidak selalu memberikan hasil yang tinggi dibandingkan dosis tunggal (P6) dalam melarutkan kalsium dan magnesium. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas kombinasi kedua ekstrak bersifat tidak sinergis, hal ini diperkirakan karena tidak seimbang atau tidak sebandingnya senyawa yang terdapat didalam ekstrak daun alpukat dan ekstrak daun kumis kucing tersebut (Amalia 2018).

Interaksi kombinasi antar bahan aktif ditujukan untuk menunjukkan efek sinergis atau efek antagonis. Kombinasi yang baik dan menguntungkan adalah kombinasi yang memiliki efek sinergis pada bahan aktif. Kombinasi dapat dikatakan sinergis yaitu apabila kombinasi antar bahan aktif menyebabkan adanya penguatan efek yang kuat, yang apabila bereaksi tunggal memiliki efek yang lemah atau tidak berefek (Saifudin 2014), sedangkan kombinasi dengan efek antagonis adalah kombinasi antar bahan aktif yang menyebabkan adanya penurunan efek (Roach dan Sally 2010).



### Kadar Mineral Ca dan Mg pada Analisis ke-2

Hasil analisis ke-2 kadar mineral Ca dan Mg pada hewan model nefrolitiasis dengan perlakuan ekstrak daun alpukat dan kumis kucing disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 3. Analisis ke-2 nilai rata-rata kadar Ca dan Mg (ppm).

Perlakuan	Analisis ke-2	
	Kadar Ca (ppm)	Kadar Mg (ppm)
P1	85.78 <sup>e</sup>	108.74 <sup>b</sup>
P2	50.79 <sup>d</sup>	314.57 <sup>e</sup>
P3	34.68 <sup>a</sup>	526.16 <sup>g</sup>
P4	102.79 <sup>f</sup>	133.79 <sup>c</sup>
P5	44.01 <sup>c</sup>	325.12 <sup>f</sup>
P6	64.21 <sup>d</sup>	73.14 <sup>a</sup>
P7	38.04 <sup>b</sup>	245.21 <sup>d</sup>

Keterangan : Kolom yang diikuti dengan huruf berbeda memiliki pengaruh yang tidak sama secara signifikan pada taraf nyata  $P < 0.05$  setelah diuji dengan *Mann-Whitney*. Uji beda rata-rata setiap waktu pengamatan dilakukan dengan uji *t sample paired*.

Berdasarkan tabel di atas, kelompok P2 memiliki pengaruh yang signifikan berbeda terhadap kelompok P1 ( $P < 0.05$ ). Nilai rata-rata kadar kalsium pada kelompok P3 lebih rendah dengan nilai sebesar 34.68 ppm sedangkan nilai rata-rata kadar magnesium lebih besar dengan nilai sebesar 526.16 ppm terhadap kelompok P2. Pemberian ekstrak tunggal daun alpukat (P4) memberikan hasil peluruhan yang terbaik ditunjukkan dengan nilai rata-rata kadar kalsium yang tinggi sebesar 102.79 ppm dibandingkan semua perlakuan. Kombinasi ekstrak dosis tunggal (P6) juga memberikan hasil peluruhan kalsium yang tinggi sebesar 62.21 ppm dengan nilai rata-rata magnesium yang lebih kecil sebesar 73.12 ppm terhadap semua perlakuan. Nilai rata-rata kadar kalsium pada kelompok P5 dan P7 memiliki nilai rata-rata kalsium yang signifikan berbeda dengan kelompok P2 ( $P < 0.05$ ) dengan nilai sebesar 44.01 ppm dan 38.04 ppm, sedangkan nilai rata-rata tersebut tidak jauh berbeda dengan kelompok P3.

Korelasi antara kalsium dan magnesium sangat keterkaitan dimana tubuh tidak dapat menyerap kalsium bila tidak memiliki cukup magnesium dan fosfor. Banyak kalsium akan membuat magnesium terdesak dari albumin sehingga tidak tersalurkan lewat darah dan tubuh akan kekurangan magnesium. Bila tidak cukup mendapatkan magnesium, ginjal tidak dapat memproses kalsium sehingga dapat terjadi endapan batu ginjal. Beberapa faktor yang mempengaruhi pembentukan kristal batu ginjal adalah pH, magnesium, sitrat dan beberapa makromolekul protein pada urin (Stoller dan Meng 2007). Penurunan aktivitas sediaan komersil terjadi dalam meluruhkan kalsium didalam urin tetapi terjadi peningkatan magnesium sebagai inhibitor batu ginjal. Peningkatan ekskresi magnesium urin lebih baik karena ketika ekskresi magnesium urin yang lebih rendah dapat meningkatkan supersaturasi kalsium oksalat dan kalsium fosfat urin dan dapat berkontribusi pada risiko batu ginjal (Al-Ghamdi *et al.* 1994).

Kadar kalsium yang rendah dan kadar magnesium yang tinggi menunjukkan mekanisme kerja diuretik di *thick ascending limb of henle* yang penting untuk reabsorpsi kalsium dan magnesium. Diuretik lengkung henle bekerja dengan

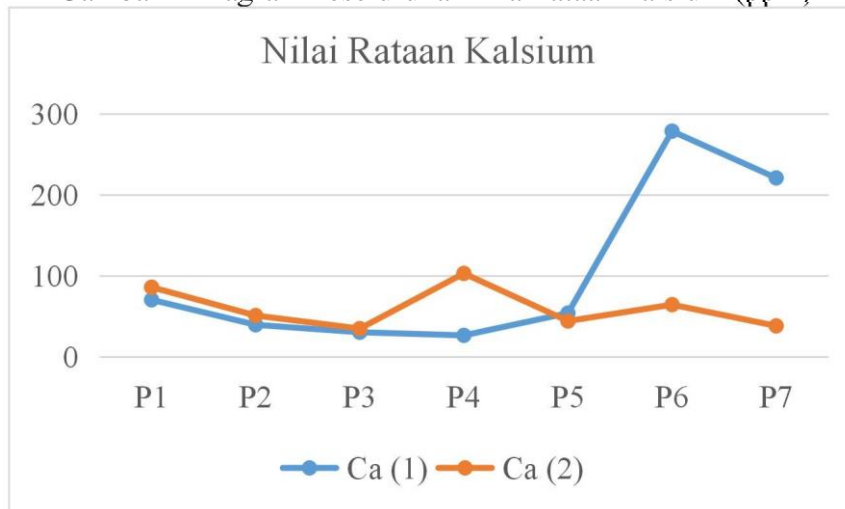
merintang transport  $\text{Cl}^-$  sehingga terjadi peningkatan reabsorpsi  $\text{Na}^+$ , pengeluaran  $\text{K}^+$ , dan air dalam urin. Kalsium yang terdeposit di ginjal dalam bentuk  $\text{CaOx}$  menyebabkan hipokalsemia karena kalsium tersebut tidak dapat direabsorpsi kembali melalui tubulus renalis (Tjay dan Rahardja 2002). Penurunan plasma kalsium secara normal dalam darah menginduksi kelenjar paratiroid untuk mensekresikan hormon paratiroid. Hormon paratiroid mengembalikan plasma kalsium normal dengan cara meningkatkan reabsorpsi kalsium di tubulus proksimal, loop of henle asenden, tubulus distal dan tubulus kolektifus, meningkatkan absorpsi kalsium di usus dan demineralisasi kalsium dari tulang (Guyton 1995).

Salah satu kandungan dalam ekstrak daun alpukat dan kumis kucing yang mampu meluruhkan komponen batu ginjal yaitu kandungan kaliumnya (Sulaksana *et al.* 2004). Daya kelarutan kalium terhadap endapan kalsium oksalat disebabkan oleh letak kalium di dalam deret volta sebelum letak kalsium dan magnesium, sehingga kalium akan menyingkirkan kalsium untuk bergabung dengan senyawa karbonat, oksalat, atau urat yang merupakan pembentuk batu ginjal dengan membentuk senyawa garam yang mudah larut dalam air, sehingga batu ginjal itu akan terlarut secara perlahan-lahan dan ikut keluar bersama urin (Dewi *et al.* 2016).

Aktivitas ekstrak tunggal kumis kucing (P5) dan kombinasi 2 (P7) memberikan efek yang hampir sama dengan sediaan komersil dalam meluruhkan komponen batu ginjal. Hal ini bisa disebabkan karena adanya senyawa metabolik saponin dan fenolik yang terkandung dalam ekstrak. Senyawa tersebut dikenal sebagai inhibitor kristalisasi kalsium oksalat dengan mendisagregasikan mucoprotein yang mempromosikan kristalisasi. Satu ekstrak kumis kucing memiliki efek kerusakan yang lebih besar efek dibandingkan dengan ekstrak daun alpukat karena memiliki kandungan flavonoid dan saponin total yang lebih tinggi daripada ekstrak daun alpukat (Gurocak *et al.* 2006).

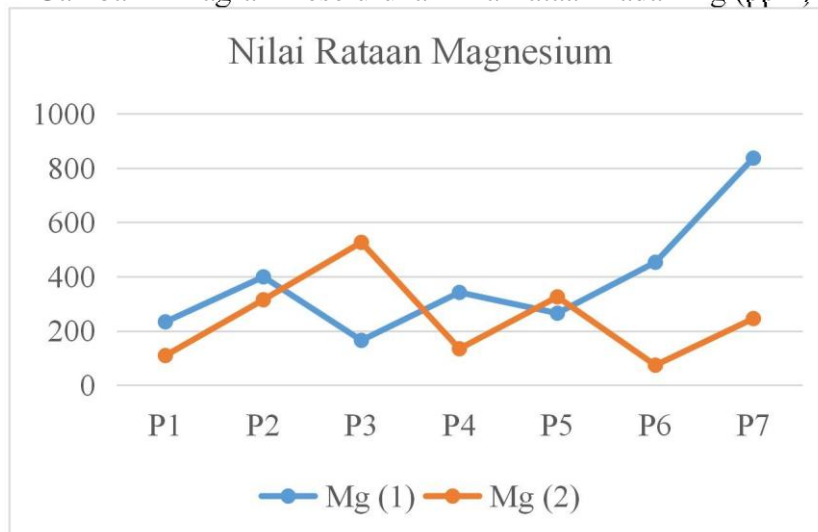
Tanaman alpukat memiliki kandungan tanin, flavonoid, protein, serat, sodium, kalsium, magnesium, zat besi dan tembaga sedangkan kandungan senyawa pada bagian tanaman kumis kucing adalah orthosiphonin glikosida, minyak atsiri, saponin, garam kalium, zat samak, minyak lemak, saponin, mioinositol, dan sinensetin (Indrayanto 1987). Tanaman kumis kucing memiliki kandungan senyawa magnesium. Kandungan senyawa magnesium didalam kedua tanaman tersebut baik alpukat maupun kumis kucing memiliki peran sebagai inhibitor nefrolitiasis dalam penelitian ini sehingga membantu proses pengurangan ikatan kalsium dan oksalat (Chweya dan Mnzava 1997).

Gambar 1 Diagram keseluruhan nilai rata-rata kalsium (ppm)



Keterangan : P1 (kontrol normal), P2 (kontrol negatif), P3 (kontrol positif), P4 (ekstrak daun alpukat), P5 (ekstrak daun kumis kucing), P6 (kombinasi 1), dan P7 (kombinasi 2).

Gambar 2 Diagram keseluruhan nilai rata-rata kadar Mg (ppm)



Keterangan : P1 (kontrol normal), P2 (kontrol negatif), P3 (kontrol positif), P4 (ekstrak daun alpukat), P5 (ekstrak daun kumis kucing), P6 (kombinasi 1), dan P7 (kombinasi 2).

Berdasarkan gambar 4.1, nilai rata-rata kadar kalsium pada kelompok P2 mengalami kenaikan sebesar 29 %. Pada kelompok P3 nilai rata-rata kadar kalsium mengalami kenaikan sebesar 15 %. Pemberian ekstrak tunggal daun alpukat (P4) memiliki presentase kenaikan tertinggi terhadap peralihan kalsium urin sebesar 291 % sedangkan pemberian ekstrak tunggal daun kumis kucing (P5) mengalami penurunan nilai rata-rata kadar kalsium sebesar 18%. Kombinasi ekstrak dosis tunggal (P6) maupun dosis bertingkat (P7) mengalami penurunan nilai rata-rata kadar kalsium yang signifikan secara signifikan sebesar 77 % dan 83 %.

Berdasarkan gambar 4.2, nilai rata-rata magnesium pada kelompok P2 mengalami penurunan sebesar 21 %. Aktivitas sediaan komersial (P3) mengalami kenaikan nilai rata-rata magnesium yang cukup tinggi terhadap peralihan

magnesium urin sebesar 219 %. Pemberian ekstrak tunggal daun alpukat (P4) mengalami penurunan nilai rata-rata kadar magnesium sebesar 61 % sedangkan pemberian ekstrak tunggal daun kumis kucing (P5) mengalami kenaikan nilai rata-rata kadar magnesium sebesar 23 %. Kombinasi ekstrak dosis tunggal (P6) maupun dosis bertingkat (P7) mengalami penurunan nilai rata-rata kadar magnesium yang signifikan sebesar 84 % dan 71 %.

Peningkatan nilai rata-rata kadar kalsium pada kelompok P2 menyebabkan peningkatan saturasi kalsium oksalat dalam kondisi hiperoksaluria. Oksalat yang berikatan dengan kalsium dalam tubuh akan membentuk senyawa yang tidak larut dan tidak dapat diserap oleh tubuh, sehingga senyawa yang berupa kristal ini mengendap dalam jaringan dan menyebabkan rasa sakit. Oksalat dapat menyebabkan kondisi hiperkalsiuria dan resorpsi kalsium, sehingga dapat menyebabkan hiperkalsium yang mengakibatkan munculnya batu kalsium oksalat (Sulistiyowati 2013). Peningkatan nilai rata-rata kadar kalsium pada setiap perlakuan yang diberikan ekstrak menunjukkan banyaknya kalsium yang mampu dilarutkan oleh suatu ekstrak (Swintari *et al.* 2016).

Kombinasi ekstrak dosis tunggal (P6) dan dosis bertingkat (P7) memberikan daya hambat maksimal dalam peluruhan kalsium pada analisis ke-1 dibandingkan kelompok lain sedangkan pada analisis ke-2 terjadi penurunan nilai rata-rata kadar kalsium. Penurunan nilai presentase diasumsikan bahwa terjadi penurunan kerusakan membran seluler oleh peroksidasi lipid dalam mekanisme radikal bebas sehingga efektif dalam peluruhan komponen batu ginjal. Menurut Park (2008), flavonoid sebagai antioksidan yang mampu menghambat kerusakan oksidatif pada sel tubular ginjal dan jaringan ginjal lainnya, memiliki efek penghambatan pada pembentukan kristal urin serta mampu melindungi tubuh dari radikal bebas dan oksigen reaktif. Peningkatan ekskresi magnesium dipengaruhi oleh hormon tiroid, asidosis, aldosteron serta kekurangan fosfor dan kalsium sedangkan penurunan ekskresi magnesium terjadi karena pengaruh kalsitonin, glucagon dan hormon paratiroid terhadap resorpsi tubulus ginjal (Syahrial *et al.* 2012; Kelsey *et al.* 2014).

Aplikasi suplementasi magnesium direkomendasikan pada pasien dengan batu oksalat dan hiperoksaluria. Asupan ransum yang mengandung magnesium mampu mengurangi penyerapan oksalat dan ekskresinya pada urin sebagaimana keefektifan kalsium dalam mengikat oksalat dalam saluran cerna (Liebman dan Costa 2000). Ekskresi magnesium yang tinggi menunjukkan penurunan baik pembentukan dan pertumbuhan kristal batu oksalat (Li *et al.* 1985; Kohri *et al.* 1988). Tingginya asupan zat gizi potensial tertentu seperti magnesium pada ransum dapat mempengaruhi komposisi urin dan risiko kristalisasi kalsium oksalat. Kandungan magnesium pada ransum menunjukkan hasil perubahan pada pH urin, ekskresi magnesium dan sitrat, menghambat pembentukan kalsium oksalat dan menyeimbangkan peningkatan ekskresi kalsium (Siener *et al.* 2004).

Magnesium difiltrasi sebanyak 15-25 % di glomerulus selanjutnya akan direabsorpsi secara pasif di tubulus proksimal dan tubulus distal sebanyak 5-10 % dan akan diekskresi melalui urin sebanyak 3 %. Banyak faktor yang dapat memacu gangguan keseimbangan magnesium, antara lain penambahan volume cairan ekstrasel akut dan kronik, diuretik, kondisi hiperkalsemia. Volume cairan ekstrasel yang meningkat akan menyebabkan peningkatan ekskresi magnesium

melalui ginjal. Diuretik menyebabkan peningkatan ekskresi magnesium dengan menghambat reabsorpsi di tubulus (Pranata 2012).

Tingginya kadar magnesium pada setiap analisis ini menunjukkan peranan magnesium sebagai inhibitor pembentukan batu ginjal. Magnesium akan berikatan dengan oksalat sehingga ikatan kalsium dan oksalat berkurang. Magnesium termasuk bahan anorganik yang berperan cukup penting dalam kalkulogenesis. Ion magnesium dapat menghambat pembentukan batu oksalat (Manalu dan Dewi 2011). Sebuah studi menggunakan simulasi komputer dinamika molekul menunjukkan bahwa kehadiran magnesium mengurangi ukuran rata-rata agregat kalsium oksalat dan kalsium fosfat; untuk agregat kalsium oksalat, magnesium mendestabilisasi pasangan ion kalsium dan oksalat (Ramaswamy *et al.* 2015).

Uji beda rata-rata setiap waktu pengukuran dilakukan dengan uji t sample paired dimana uji ini digunakan untuk melihat pengaruh rata-rata kadar kalsium dan magnesium pada analisis ke- 1 dan analisis ke- 2. Berdasarkan uji t sample paired menunjukkan bahwa nilai sig (2-tailed) kadar kalsium pada analisis ke- 1 dengan kadar kalsium pada analisis ke- 2 sebesar  $0.073 >$  dari taraf signifikansi 0.05 sehingga pada analisis ke- 1 dan analisis ke- 2 tidak memiliki pengaruh yang berbeda secara signifikan. Hal ini membuktikan bahwa pengukuran terhadap nilai rata-rata kadar kalsium tidak dipengaruhi oleh waktu.

Analisis statistik uji t sample paired pada rata-rata magnesium menunjukkan bahwa nilai sig (2-tailed) kadar magnesium pada analisis ke- 1 kadar magnesium pada analisis ke- 2 sebesar  $0.041 <$  dari taraf signifikansi 0.05 sehingga kedua analisis ke- 1 dan analisis ke- 2 didapatkan hasil yang cukup besar untuk rata-rata kadar magnesium dibandingkan dengan kalsium karena terdapat perbedaan signifikan antara kadar magnesium analisis ke-1 dan analisis ke-2. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak dengan efek jangka panjang mampu mempengaruhi peningkatan nilai rata-rata kadar magnesium.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

### **Simpulan**

Kombinasi ekstrak dosis tunggal (P6) dan kombinasi ekstrak dosisbertingkat (P7) memberikan peluruhan terbaik ditunjukkan dengan penurunan nilai rata-rata kalsium yang cukup tinggi yaitu sebesar 77 % dan 83 % diikuti dengan penurunan magnesium sebesar 84 % dan 71 %. Kombinasi ekstrak memiliki aktivitas yang mampu mencegah kadar kejenuhan kalsium urin dan mengurangi kemungkinan pembentukan kristal urin.

### **Saran**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut uji toksisitas kombinasi ekstrak daun alpukat dan tanaman kumis kucing terhadap kelarutan kalsium dan magnesium. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai histopatologi terhadap organ-organ pada tikus setelah pemberian perlakuan ekstrak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni S. 2013. Uji aktivitas penghambatan pembentukan batu ginjal (anti nefrolitiasis) ekstrak etanol dari herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) urban) pada tikus putih jantan. [Skripsi]. Jakarta (ID): UIN Syarif Hidayatullah.
- Amalia M. 2018. Aktivitas kombinasi ekstrak daun alpukat dan tanaman kumis kucing terhadap daya luruh kalsium oksalat in vitro. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Albasan H, Osborne CA, Lulich JP, Lekcharoensuk C, Koehler LA, Ulrich LK, Swanson LL. 2009. Rate and frequency of recurrence of uroliths after an initial ammonium urate, calcium oxalate, or struvite urolith in cats. *JAVMA*. 235 (12): 1450-1455.
- Al-Ghamdi SM, Cameron EC, Sutton RA. 1994. Magnesium deficiency: pathophysiologic and clinical overview. *AJKD*. 24 (5):737-752.
- Apritya D, Yunani R, Widyawati R. 2017. Analisis urin kasus urolithiasis pada kucing tahun 2017 di Surabaya. *AGROVET*. 6 (1): 82-85.
- Basheer A, Majid AA. 2010. *Medical Potential of Orthosiphon stamineus Benth.* Malaysia (MY): Webmed Centr
- Bipat R *et al.* 2008. Effects of plants popularly used against hypertension on nornephrine-stimulated guinea pig atria. *Phcog J*. 4 (13): 12-9.
- Brai BIC, Odetola AA, Agomo PU. 2007. Effects of *Persea americana* leafextracts on body weight and liver lipid in rats fed hyperlipidaemic diet. *Afr JBiotech*. 6 (8): 1007-1011.
- Chweya JA, Mnzava NA. 1997. Cat whiskers. Italy (IT): Bioersivity International.
- Cochat P, Rumsby G. 2013. Primary Hperoxaluria. *N Eng J Med*. 369 (7): 649-656.
- Confer AW, Panciera RJ. 1995. *Thomson's special veterinary pathology*. Ed ke- 2. Edited by: Carlton WW dan McGavin MD. Mosby. Cox RD, Phillips WJ. 2004. Ethylene glycol toxicity. *Mil Med*. 169 (8): 660-663.
- Costanzo LS. 1998. Regulation of calcium and phosphate homeostasis. *Adv in Physiol Edu*. 275.6: S206-216.
- Dewi EKM, Walanda DK, Sabang SM. 2016. Pengaruh ekstrak seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap kelarutan kalsium dalam batu ginjal. *JAK*. (3): 127-132.
- Fan J, Glass M, Chandhoke P. 1997. Impact of ammonium chloride administration on a rat ethylen glycol urolithiasis model. *Scranning Microscopy*. 13 (2-3) : 299-306.
- Fitriani CN. 2012. Penentuan kadar kalium (K) dan kalsium (Ca) dalam labu siam (*sechium edule*) serta pengaruh tempat tumbuhnya. *JAK*. 1 (4): 174-180.
- Ganong WF. 2003. *Buku ajar fisiologi kedokteran*. Jakarta (ID): ECG.
- Gipson JM. 1996. *Biokimia Patologi Hewan*. Bogor (ID): Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor.
- Green ML, Hatch M, Freed RW. 2005. Ethylene glycol induces hyperoxaluria without metabolic acidosis in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 289: 536- 543.

- Gum JG. 2004. Magnesium in cardiovascular and other disorders. *AJHP*. 61: 1569-76.
- Gurocak S, Kupeli B. 2006. Consumption of historical and current phyto-therapeutic agents for urolithiasis: a critical review. *J Urol*. 176: 450-455.
- Guyton. 1995. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 7 Bagian III*. Jakarta (ID): EGC.
- Guyton AG. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Ed ke-11. Jakarta (ID): ECG.
- Han H, Segal AM, Seifter JL, Dwyer JT. 2015. Nutritional management of kidney stone (Nephrolthiasis). *Clin Nutr Res*. 4 : 137-152.
- Hardyanto J. 2013. Efek Perasan Daun dan Tangkai Semanggi Air (*Marsilea Crenata*) Terhadap Penurunan Kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) Dan Interleukin 1 Beta (IL-1 $\beta$ ) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Urolithiasis. *J Ilm*. 1 : 3.
- Hartono R. 1992. *Histologi Veteriner*. Jakarta (ID): Universitas Indonesia.
- Houston. 2007. Epidemiology of Feline Urolithiasis. *Vet Focus*. 17 (1): 4-9.
- Indrayanto, G., 1987. *Produksi meta- bolit sekunder dengan teknik kultur jaringan*. Dalam buku Risalah Seminar Nasional Metabolit Sekunder 1987. (Ed.) Suwijiyono Pramono, D. Gunawan dan C.J. Soegiarto. 6-9 September. Yogyakarta. PAU Bioteknologi UGM. hal. 32 – 44.
- Kelsey MM, Shivani S, Jane EK. 2014. Dietary protein is beneficial to bone health under condition of adequate calcium intake: an update on clinical research. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 17 (1): 69-74.
- Kohri K, Garside J & Blacklock NJ (1988): The role of magnesium in calcium oxalate urolithiasis. *Br. J. Urol*. 61 : 107-115.
- Komarek V, Gembardt C, Krinke A, Mahrous TA, Schaetti P. 2000. *Synopsis of the Organ Anatomy*. Czech Republic (CZ): Agricultural University, Prague.
- Li MK, Blacklock NJ, Garside J. 1985. Effects of magnesium on calcium oxalate crystallization. *J. Urol*. 133: 123-125.
- Liebman M, Costa G. 2000. Effects of calcium and magnesium on urinary oxalate excretion after oxalate loads. *J. Urol*. 163 : 1565-1569.
- Madyastuti R, Wienyatsih I, Widodo S, Purwaningsih EH, Harlina E. 2019. Gambaran kristal urin pada hewan model urolitiasis hasil induksi kombinasi etilen glikol dan amonium klorida. *ARSHI Vet Lett*. 3 (1): 19-20.
- Madyastuti R, Widodo S, Wientarsih I, Harlina E. 2015. Infusum daun alpukat sebagai inhibitor kristalisasi kalsium oksalat pada ginjal. *J Vet*. 16 (4): 525-532.
- Manalu JL, Dewi R. 2011. Analisis nukleasi dan pertumbuhan batu salurankemih in vitro melalui metode fisika. *Dam J Med*. 10 (1): 8-13.
- Marengo SR, Romani AMP. 2008. Oxalate in renal stone disease: the terminal metabolite that just wont go away. *Nat Clin Pract Nephrol*. 4 (7): 368-377.
- Mehmed MM, Ender O. 2015. Effect of urinary stone disease and it's treatment on renal function. *World J Nephrol*. 4 (2): 271-276.
- Meimaridou E, Lobus E, Hothersall JS. 2006. Renal oxidative vulnerability due to changes in mitochondrialglutathione and energy homestasis in a rat model of calcium oxalate urolithiasis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 291 (4): 31-40.
- Nessa, Arifin H, Muchtar H. 2013. Efek Diuretik dan Daya Larut Batu Ginjal dari Ekstrak Etanol Rambut Jagung (*Zea mays L.*). *Prossiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III*. ISSN: 2339-2592.

- Park HK. 2008. Reduction of oxidative stress in cultured renal tubular cells and preventive effects on renal stone formation by the bioflavonoid quercetin. *J of Urol.* 179 (4): 1620-6.
- Pranata AE. 2013. *Manajemen Cairan dan Elektrolit*. Yogyakarta (ID): Nuha Medika.
- Pratiwi P, Suzery M, Cahyono B. 2010. Total fenolat dan flavonoid dari ekstrak dan fraksi daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) jawa tengah serta aktivitas antioksidannya. *JSM.* 18 (4): 140-148.
- Ramaswamy K, Killilea DW, Kapahi P, Kahn AJ, Chi T, Stoller ML. 2015. The elementome of calcium-based urinary stones and its role in urolithiasis. *Nat Rev Urol.* 12 (10): 543-557.
- Rao KNV, Sunitha CH, Banji D, Sandhya S, Shwetha D, Krishna M. 2011. Diuretic activity on different extracts and formulation on aerial parts of *Rumex vesicarius* Linn. *J Chem Pharm Res.* 3 (6): 400-408.
- Roach, Sally S. 2010. *Introductory Clinical Pharmacology*. United States of JAmerica (US): Lippincott Williams and Wilkins.
- Ross LA. 2005. Calcium Oxalate Urolithiasis in Dogs and Cats. *Standards of Care: Emergency and Critical Care Medicine from The Publisher of Compendium.* 77: 1-6.
- Saifudin A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta (ID): Deepublish.
- Santi I, Rahmawati, Tari L. Efek ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap gambaran histologi ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) model urolithiasis. *J Pharm Sci and Tech.* 1 (1): 42-50.
- Saravana C, Shanta KS, Ananda R, Narayanaswamy VB, Varunraj S. 2010. Anti inflammatory and diuretic effect of plant extract of *Pseudarthia viscida* weight and arn. *Int J Res Pharm.* 1 (2): 506-509.
- Sasikumar P, Gomathi S, Kolandaswamy A, Abishek A, Paul E, Vasudevan V, Sasikumar S, Selvam G. 2014. Recombinant lactobacillus plantarum expressing and secreting heterologous oxalate decarboxylase prevent renal calcium oxalate stone deposition in experimental rats. *J Biomed Sci.* 21: 86.
- Siener, Jahnen A, Hesse A. 2004. Influence of a mineral water rich in calcium, magnesium and bicarbonate on urine composition and the risk of calcium oxalate crystallization. *Eur J Clin Nutr.* 58 : 270-276.
- Sparkes AH, Philippe CJ. 2008. Urolithiasis in Cats: Managing The Risks. *Nestle Purina Pet Care.* 1-7.
- Spigno G, Faveri DMD. 2007. Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity, and antioxidant power of the extracts. *J Food Eng.* 78 : 793-801.
- Stoller ML, Meng MV. 2007. *Urinary Stone Disease: The Practical Guide to Medical and Surgical Management*. New Jersey (USA): Humana Press.
- Suharjo SB, Cahyono B. 2009. *Batu ginjal*. Yogyakarta (ID): Kanisius.
- Sulaksana J. 2004. *Tempuyung Budi Daya dan Pemanfaatan Untuk Obat*. Jakarta (ID): Penebar Swadaya.
- Sulistiyowati R, Setiani O, Nurjazuli. 2013. Faktor resiko yang berhubungan dengan kejadian kristal batu saluran kemih di desa Mrisi kecamatan Tanggungharjo kabupaten Grobogan. *JKLI.* 12 (2): 99-105.



- Swintari NW, Yuliet, Khaerati K. 2017. Aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap kelarutan kalsium batu ginjal secara in vitro. *GALENIKA J. Pharm.* 3 (1): 34-42.
- Syahrial, Vitria, Aini F. 2012. Hubungan Asupan Makanan dengan Massa Tulang Pada Anak SMA di Kota Padang. Padang: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Andalas Padang. *JKA.* 1-12.
- Tilley LP, Smith FWK. 2004. *The 5-Minute Veterinary Consult: Canine and Feline.* IOWA (USA): Blackwell Publishing.
- Tjay TH, Rahardja K. 2015. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya.* Jakarta (ID): PT Elex Media Komputindo.
- Tondok MEB, Monoarfa A, Limpeleh H. 2014. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/eclinic/article/download/3722/3245>.
- Topf JM, Murray PT. 2003. Hypomagnesemia and hypermagnesemia. *Rev Endocr Metab Disord.* 4: 195-206.
- Wientarsih I, Harlina E, Purwono RM, Utami ITH. 2014. Aktivitas ekstrak etanol daun alpukat terhadap zat nefrotoksik ginjal tikus. *J Vet.* 15 (2): 246-251.
- Wientarsih I, Madyastuti R, Prasetyo BF, Firnanda D. 2012. Gambaran serum ureum dan kreatinin pada tikus putih yang diberi fraksi etil asetat daun alpukat. *J Vet.* 13 (1): 57-62.
- Yusmiati SNH, Wulandari RE. 2017. Pemeriksaan kadar kalsium pada masyarakat dengan pola makan vegetarian. *J Sains Health.* 1(1): 43- 49.
- Zhang L, Shan Y, Tang K, Putheti R. 2009. Ultrasound-assisted extraction flavonoids from Lotus (*Nelumbo nuficera Gaertn*) leaf and evaluation of its anti-fatigue activity. *Int Phys Sci.* 4: 418-422.