

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG PAKOBA (*Syzygium sp.*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH YANG DIINDUKSI ETILEN GLIKOL

Mario Walean^{1*}, Rolef Rumondor², Hendra P. Maliangkay² dan Rostina Melpin¹

¹Program Studi Farmasi, Universitas Prisma Manado

²Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Trinita Manado

ABSTRAK

Pakoba sebagai tanaman endemik Sulawesi Utara yang mempunyai manfaat secara etnomedikal dalam mengobati batu ginjal. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui gambaran histopatologi ginjal yang diinduksi etilen glikol dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba. Tikus putih jantan dewasa (n= 20) dengan berat rata-rata 150-200 gram dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan. Kelompok pertama sebagai kontrol normal dengan pemberian aquadest, kelompok kedua diberikan etilen glikol 0,75%, kelompok ketiga dan keempat diberi etilen glikol 0,75 % dan ekstrak etanol kulit batang pakoba 150 mg/kg BB dan 300mg/kg BB. Hasil penelitian menunjukkan gambaran histopatologi ginjal dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba 150 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB dapat memperbaiki ginjal tikus yang mengalami kerusakan akibat pemberian etilen glikol. Dosis 300 mg/kg BB lebih baik dalam memperbaiki ginjal dibandingkan dengan dosis 150 mg/kg BB.

Kata kunci: Histopatologi, pakoba, etilen glikol

ABSTRACT

Pakoba as a North Sulawesi endemic plant that has ethnomedical benefits in treating kidney stones. The purpose of this research was to investigate the histopathology of kidney rats induced ethylene glycol by administration of bark ethanol extract of pakoba. Adult male rats (n = 20) with an average weight of 150-200 grams divided into 4 treatment groups. The first group as normal control with aqueous, the second group was given 0.75% ethylene glycol, the third and fourth groups were given 0.75% ethylene glycol and 150 mg/kg BW and 300 mg/kg BW bark ethanol extract of bark. The results showed renal histopatogy with the ethanol extract of pakoba steam bark 150 mg/kg BW and 300 mg/kg BW can repair the renal kidney damaged due to ethylene glycol induced. Dose 300 mg/kg BW better in repairing kidney compared with dose 150 mg/kg BB.

Keywords: Histopatologi, pakoba, etilen glikol

PENDAHULUAN

Seiring dengan kemajuan teknologi, penggunaan obat herbal masih banyak digemari oleh masyarakat. Hal tersebut disebabkan obat herbal mempunyai banyak keuntungan, antara lain: harga yang relatif murah sehingga dapat dijangkau masyarakat luas, praktis dalam pemakaian, bahan baku yang mudah diperoleh dan disamping itu efek samping penggunaan obat herbal yang sejauh ini dianggap lebih kecil daripada efek samping obat sintetik jika digunakan secara tepat (Sari, 2006). Ketepatan itu menyangkut tepat dosis, cara dan waktu penggunaan serta pemilihan bahan ramuan yang sesuai dengan indikasi penggunaannya.

Salah satu penyakit yang banyak diobati dengan tanaman obat adalah batu ginjal tanaman obat tersebut misalnya daun kecebeling, alpukat, kumis kucing, dll yang telah diketahui secara

empiris manfaatnya oleh masyarakat. Diperkirakan terdapat 12% kejadian pada penduduk dunia, dimana 70-81% terdapat pada laki-laki dan hanya 47-60% pada perempuan terutama diusia 40-50 tahun. Batu ginjal merupakan material mineral kristal yang keras yang terbentuk dalam ginjal atau traktus urinaria, terbentuk akibat kelebihan garam di aliran darah yang kemudian dapat menimbulkan rasa sakit yang hebat serta pendarahan ringan. Batu ginjal tidak dapat larut hanya dengan mengatur pola diet. Penggunaan obat-obatan seperti diuretik hingga operasi pengangkatan batu tertentu memiliki resiko tinggi dan biaya yang mahal (Lee dkk., 1996; Joy dkk., 2012).

Pakoba adalah salah satu tanaman obat masyarakat Minahasa dan merupakan spesies endemik di Sulawesi Utara. Pakoba hanya dapat ditemukan di daerah Minahasa dan memiliki beberapa nama lokal yaitu Kowal (Minahasa

* Korespondensi :

Telpon: +62 899-2014-134

E-mail: mario_walean@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.35799/cp.11.1.2018.27613>

Induk), Lemes (Langowan dan Minahasa Selatan), Pakowa atau Pakuwa (Tondano dan Minahasa Utara) dan Pakoba (Bitung). Secara etnomedikal Pakoba digunakan oleh sebagian masyarakat untuk mengobati diabetes dan batu ginjal. Penelitian sebelumnya tentang Pakoba menunjukkan bahwa Pakoba memiliki aktivitas antioksidan (Karundeng dkk., 2013). Saat ini belum ada kajian secara ilmiah tentang manfaat Pakoba untuk pengobatan batu ginjal. Sehingga perlu dilakukan suatu kajian ilmiah tentang manfaat Pakoba dalam mengobati batu ginjal. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui gambaran histopatologi ginjal yang diiduksi etilen glikol dengan pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Penelitian ini menggunakan hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) tikus-tikus dengan bobot kira-kira 150-200 g sebanyak 20 ekor. Tikus-tikus dipelihara secara individual di dalam kandang plastik berukuran 25 × 40 cm dengan penutup kawat dalam kondisi masing-masing 12 jam gelap dan terang. Pemberian pakan dan air minum dilakukan secara *ad libitum*. Sebelum perlakuan, tikus-tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari. Alat yang digunakan kandang tikus dari plastic, alat injeksi, alat bedah, botol kaca, blender, *hot plate* (Biosan), *shaker incubator* (Biosan), mikrotom, kaca objek dan kaca penutup, mikroskop kamera (Hirox), *rotary evaporator* (Heindolph), timbangan analitik. Bahan yang digunakan aquades, etilen glikol untuk perlakuan batu ginjal, NaCl fisiologis, larutan Bouin, etanol, xylol, paraffin, pewarnaan hematoksilin dan eosin. Pengujian kandungan fitokimia menggunakan pareaksi Dragendorff, pareaksi Mayer's, pareaksi Wagner, etanol 95%, HCL, logam Mg, FeCl₃ dan H₂SO₄.

Cara kerja

Pembuatan simplisia

Sampel kulit batang pakoba yang diperoleh, dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Diblender menjadi serbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 20 mesh dan disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.

Pembuatan ekstrak etanol

Ekstraksi dilakukan dengan menambahkan etanol ke dalam serbuk dengan perbandingan jumlah pelarut dengan serbuk 1:5 (berat:volume), kemudian direndam selama 72 jam (3×24 jam) dalam *shaker incubator* (Biosan). Hasil maserasi berupa ekstrak etanol kemudian dievaporasi dengan alat *rotary evaporator* (Heindopl) untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental (Umesh dkk., 2011).

Analisis fitokimia

Analisis fitokimia menggunakan metode yang dikembangkan Harborne (1996) Uji alkaloid. Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambahkan 3 mL kloroform dan 3 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pareaksi Meyer dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih oleh pareaksi Meyer dan endapan coklat oleh pareaksi Wegner.

Uji saponin dan flavonoid. Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan dalam gelas piala kemudian ditambahkan 100 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokkan 10 ml filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih/busa yang stabil. Sebanyak 10 ml filtrat yang lain ditambahkan 0.05 g. serbuk magnesium, 2ml alkohol karbohidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan perbandingan 1:1) dan 20 ml amil alkohol kemudian dikocok kuat. Terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alcohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji tanin. Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambahkan 2 mL air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Lalu disaring dan filtratnya ditambah 1 tetes FeCl₃ 1 % (b/v). Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.

Uji aktivitas antilithiasis

Hewan uji diaklimatisasi selama 2 minggu kemudian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu Kelompok I sebagai kontrol normal dengan pemberian aquadest (P1), kelompok II diberikan etilen glikol 0.75% (P2), kelompok III dengan pemberian etilen glikol 0.75 % dan ekstrak etanol kulit batang pakoba 150 mg/kg BB (P3) dan kelompok IV dengan pemberian etilen glikol 0,75

% dan ekstrak etanol kulit batang pakoba 300 mg/kg BB. Kelompok P2, P3 dan P4 diberi *inducer* etilen glikol 0,75% dalam air minum secara *ad libitum* selama 14 hari untuk mendapatkan tikus batu ginjal. Sementara untuk kelompok P1 (kontrol) hanya diberi aquades. Pada hari ke 15 perlakuan, kelompok P3 dan P4 diberi perlakuan dengan ekstrak etanol kulit batang pakoba masing – masing dengan dosis 150 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB yang telah diencerkan menggunakan aquades hingga hari ke 28. Pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dilakukan melalui oral dengan menggunakan sonde lambung. Di akhir percobaan, tikus-tikus dikorbankan melalui pembusuan dengan menggunakan eter untuk pengambilan ginjal.

Histopatologi ginjal

Abdomen dibuka kemudian ginjal diangkat, dibersihkan dari jaringan sekitarnya dan difiksasi dengan larutan Bouin. Selanjutnya *embedding* di paraffin, dipotong dengan ketebalan 5µM dan diwarnai dengan hematoksin-eosin (H-E) untuk melihat perubahan histopatologi (Humason, 1967; Biren dkk., 2011). Gambaran histopatologi ginjal dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Simplisia kulit batang pakoba sebanyak 500 g. dilarutkan dalam pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Kemudian dimaserasi selama 3 hari dalam *shaker incubator* pada suhu 25 °C. Hasil maserasi kemudian disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40 °C dan tekanan pompa vakum 175 mbar sesuai dengan protokol alat. Dari hasil ekstraksi diperoleh ekstrak etanol kulit batang Pakoba sebanyak 20,4 g. yang berwarna merah darah dengan aroma khas kulit batang Pakoba

Ekstraksi bahan tumbuhan adalah tahap yang sangat penting dalam memperoleh metabolit sekunder tumbuhan untuk dimanfaatkan sebagai obat. Faktor yang paling penting mempengaruhi hasil ekstraksi yaitu pelarut, waktu dan suhu dalam melakukan ekstraksi (Mokosuli, 2007). Menurut Faraouq (Dalam Mokosuli 2007) ekstraksi simplisia tumbuhan untuk tujuan obat herbal terbaik digunakan pelarut etanol. Etanol dapat bercampur dengan air dalam berbagai perbandingan dan mudah dalam penguapan residu yang ada dalam ekstrak. Pelarut metanol, etil asetat atau heksan tidak diperbolehkan karena

residu toksik yang dihasilkan. Secara empiris kulit batang Pakoba yang digunakan masyarakat sebagai bahan obat direbus dengan air dan diambil sarinya.

Analisis fitokimia

Analisis fitokimia adalah satu cara mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu sampel tumbuhan. Dalam penelitian ini analisis fitokimia menggunakan prosedur Harborne (1996). Senyawa-senyawa yang dianalisis meliputi alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin.

Tabel 1. Hasil analisis fitokimia ekstrak etanol kulit batang pakoba

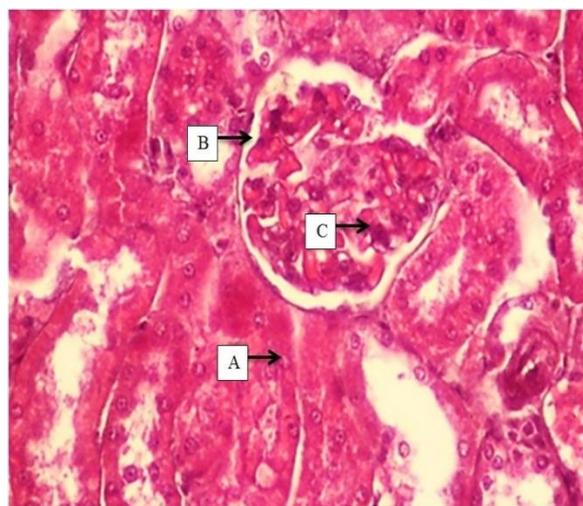
Golongan senyawa	Hasil uji
Alkaloid	++
Flavonoid	++
Saponin	-
Tanin	+++

Keterangan: tanda + menunjukkan tingkat intensitas warna

Hasil uji fitokimia yang dilakukan sejalan dengan hasil uji fitokimia ekstrak etanol kulit batang pakoba yang dilakukan Kinho dkk. (2011) yang mengandung alkaloid, flavonoid dan tanin.

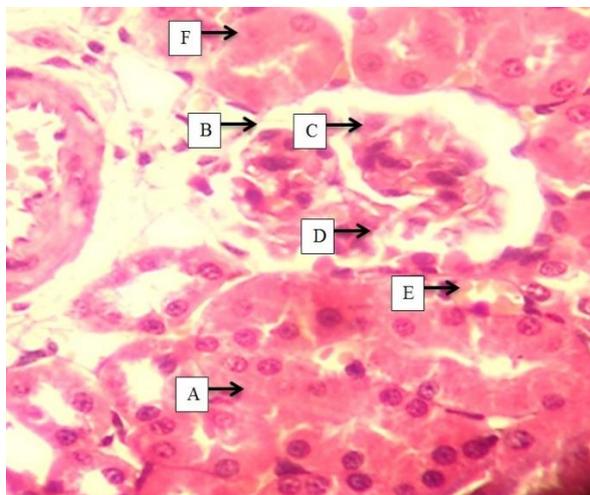
Analisis histopatologi ginjal tikus

Hasil Penelitian histopatologi aktivitas antilitiasis ekstrak etanol kulit batang pakoba (*Syzygium sp.*) pada tikus putih jantan adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Histopatologi ginjal tikus kontrol (P1) perbesaran 400 X, Keterangan: A= tubulus, B= glomerulus, C= sel-sel podosit

Pada tikus kontrol (Gambar.1) terlihat korpus renalis dan tubulus ginjal dalam keadaan normal. Sel-sel podosit pada korpus dengan inti yang terlihat jelas. Ruang kapsular renalis nampak jelas demikian juga dengan kapiler-kapiler yang terdapat pada glomerulus. Pada tubulus terlihat lumen dengan sel-sel dan inti yang masih utuh dan terlihat dengan jelas.

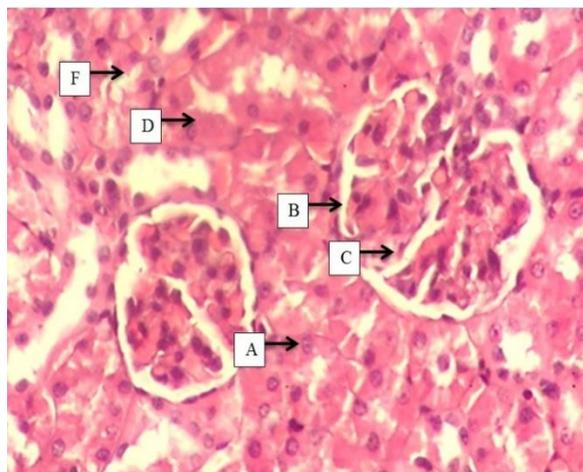


Gambar 2. Histopatologi ginjal tikus Urolitiasis (P2) perbesaran 400X. Keterangan: A= Tubulus, B= Glomerulus, C= Sel-sel podosit yang mengalami atrofi (Penyusutan) D= Sel yang mengalami deskuamasi, E= Endapan kristal pada tubulus, F= Tubulus yang mengalami peradangan

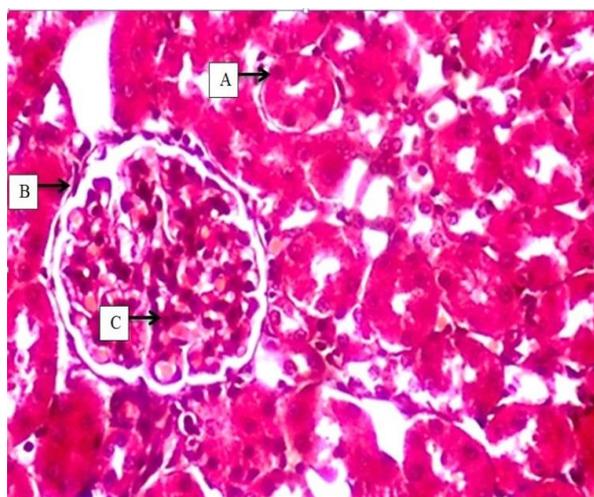
Tikus yang diinduksi dengan etilen glikol 0,75% (Gambar. 2) terlihat adanya kerusakan pada korpus renalis dan tubulus ginjal. Sel-sel podosit pada korpus renalis mengalami atrofi bahkan kehilangan inti yang ditandai dengan sel-sel yang mulai mengecil. Hal yang serupa terlihat juga pada kapsula renalis (Bowman) dimana sel-sel epitelium kapsular mengalami atrofi dan deskuamasi. Pada tubulus ginjal, sel-sel epitel mengalami inflamasi Juga terlihat adanya endapan kristal di tubulus ginjal.

Pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dosis 150 mg/kg BB pada tikus urolitiasis (Gambar 3) Sudah menunjukkan adanya perbaikan yang pada korpus renalis dan tubulus ginjal, di mana korpus renalis sudah terlihat normal walaupun masih terlihat adanya kerusakan pada glomerulus dan tubulus yaitu berupa sel-sel podosit yang masih mengalami atrofi (penyusutan sel) dan inflamasi pada tubulus serta masih terlihat terdapat endapan mikrokrystal di tubulus ginjal dan di sekitar tubulus. Pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dengan dosis 300 mg/kg BB pada tikus urolitiasis (Gambar 4),

menunjukkan adanya perbaikan pada glomerulus dan tubulus ke arah normal. Tidak terlihat adanya kerusakan pada glomerulus dan tubulus seperti inflamasi, atrofi, diskvamasi sel-sel epitel dan endapan mikrokrystal hampir tidak terlihat jika dibandingkan dengan ginjal tikus yang diinduksi dengan etilen glikol.



Gambar 3. Histopatologi ginjal tikus Urolitiasis dosis 150 mg/kg BB perbesaran 400X. Keterangan: A= Tubulus, B= Glomerulus, C= Sel podosit yang masih mengalami atrofi D= Tubulus yang mengalami inflamasi, F= Mikrokrystal



Gambar 4. Histopatologi ginjal tikus Urolitiasis (P4) dosis 300 mg/kg BB perbesaran 400 X. Ketrangan: A= Tubulus, B= Glomerulus, C= Sel-sel podosit

Pemilihan tikus jantan sebagai hewan coba untuk urolitiasis (batu ginjal) pada penelitian ini dikarenakan sistem urinaria pada tikus jantan menyerupai manusia. Adapun prosentase terjadinya batu ginjal pada tikus jantan mencapai

70-81% sedangkan tikus betina 47-60%. Hal ini disebabkan tikus jantan memiliki hormon testosteron yang dapat meningkatkan terjadinya batu ginjal, sedangkan pada tikus betina adanya hormon estrogen yang menghambat pembentukan batu ginjal (Devi dkk., 1993; Lee, dkk., 1996; Joy dkk., 2012).

Alasan penggunaan etilen glikol dalam penelitian ini yaitu untuk merangsang terbentuknya urolitiasis, karena etilen glikol merupakan agen nefrotoksik yang sering digunakan pada suatu eksperimen dengan hewan model tikus untuk merangsang terbentuknya kalsium oksalat di ginjal. Etilen glikol diserap dan dimetabolisme di hati oleh enzim alkohol dehidrogenase atau aldehyd dehidrogenase menjadi asam glikolat. Asam glikolat dioksidasi menjadi asam glioksalat yang selanjutnya dioksidasi menjadi asam oksalat oleh enzim glikolat oksidase atau laktat dehidrogenase. Senyawa metabolik oksalat dapat berikatan dengan kalsium dalam darah membentuk kristal kalsium oksalat dan mengendap di ginjal. (Parmar, dkk., 2011).

Pemberian etilen glikol pada penelitian ini menyebabkan kerusakan pada glomerulus dan tubulus ginjal yang ditandai dengan adanya atropi sel-sel, inflamasi ke dalam lumen tubulus. Sel-sel epitel mengalami diskuamasi bahkan kehilangan inti sel serta adanya endapan mikrokristal di tubulus ginjal. Mekap (2011) dan Schaltdt dkk. (1998) mengemukakan bahwa gambaran histopatologi ginjal tikus litiasis dengan etilen glikol memperlihatkan adanya atropi pada glomerulus dan deposisi kristal. Tubulus mengalami dilatasi, degenerasi pada lapisan epitelium dan Pemanfaatan tanaman obat sangat manjur karena memiliki efek samping yang rendah dibandingkan dengan obat-obatan modern. Selain itu, dapat mengurangi laju terulangnya penyakit batu ginjal (Prasad dkk., 2007).

Pemberian ekstrak etanol kulit batang pakoba dosis 150 mg/kg BB pada tikus urolitiasis akibat pemberian etilen glikol sebelumnya, telah menunjukkan perbaikan ke arah normal. Tetapi masih terlihat adanya kerusakan pada glomerulus dan tubulus meskipun, pada dosis ini telah terjadi penurunan mikrokristal jika dibandingkan dengan ginjal tikus yang diinduksi etilen glikol. Sementara pemberian dosis 300 mg/kg BB menunjukkan adanya perbaikan yang lebih baik ke arah normal, karena tidak terlihat adanya tanda-tanda kerusakan.

Hasil dari uji fitokimia ekstrak etanol kulit batang pakoba mengandung alkaloid, flavonoid

dan tannin. Beberapa penelitian melaporkan tanaman obat yang memiliki kandungan Flavanoid dan alkaloid memiliki aktivitas diuretik (Halliwell, 1991) sehingga dapat mengeluarkan batu ginjal dengan meningkatkan volume urine. Aktivitas diuretik membantu meningkatkan volume urine, pH dan aktivitas anti kalsifikasi, aktivitas penghambatan kristalisasi dengan menyeimbangkan faktor inhibitor dan promotor kristalisasi di urine. Karundeng dkk., (2013) melaporkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dari pakoba. Adanya antioksidan dapat juga memperbaiki jaringan renalis dan keutuhan sel Pareta dkk. (2011)

Aktifitas diuretik membantu pengeluaran batu ginjal secara spontan dengan cara meningkatkan volume urine, pH dan aktivitas anti kalsifikasi. Aktivitas diuretik juga dapat berfungsi untuk melarutkan batu ginjal supaya memudahkan pengeluaran tanpa hambatan. Aktivitas diuretik juga diperlukan untuk meningkatkan jumlah cairan yang melintasi ginjal dan mengeluarkan deposit. Peningkatan volume urine menurunkan kejenuhan garam-garam dan mencegah pengendapan kristal pada pH fisiologis. Semua tanaman yang digunakan untuk pengobatan urolithiasis memiliki aktivitas diuretik dan beberapa darinya memiliki aktivitas alkalitik pada urine.

Hasil penelitian histopatologi aktivitas antilitiasis ekstrak etanol kulit batang pakoba pada tikus putih jantan menunjukkan adanya perubahan yang berarti pada perbaikan struktur ginjal yang mengalami urolitiasis. Pemberian ekstrak dengan dosis 300 mg/kg BB berdasarkan gambaran histopatologi dalam penelitian ini ternyata efektif sebagai antilitiasis pada tikus yang mengalami urolitiasis.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit batang pakoba 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB dapat memperbaiki ginjal tikus yang mengalami urolitiasis yang diinduksi etilen glikol. Ekstrak etanol kulit batang pakoba 300 mg/kgBB lebih baik dalam memperbaiki ginjal dibandingkan dengan dosis 150 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Halliwell, B. 1991. *Antioxidant effects: A basis is for drug Selection. Drugs.* 42(4), 569-605
Devi, V.K., Baskar, R. & Varalakshmi, P. 1993. Biochemical effect in normal and Stone

- forming rats treated with the ripe kernel juice og Plantain (*Musa paradisiaca*). *Ancient Science of Life*. 12(3-4): 451-461.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia, penuntun dan cara modern menganalisis tumbuhan*. Penerjemah : Padmawinata K dan Soediro I. Penerbit ITB. Bandung.
- Humason, G.L. 1967. *Animal tissue technique*. W. H. Freeman and Company. San Francisco.
- Joy, J.M., Prathyusha, S., Mohanalakshmi, S., Kumar, A.V.S.P. & Kumar, C.K.A. 2012. Potent herbal wealth with litholytic activity. A Review. *International journal of Innovative Drug Discovery*. 2(2): 66-75
- Karundeng, A.E., Aloanis, A., Pongoh, E.J. & Rumampuk, R.J. 2013. *Kemampuan antioksidan pakoba merah (Syzygium sp)*. Seminar Nasional Kimia Terapan Indonesia. Vol. 2. Hal. 85.
- Kinho, J., Arini, D.I.D, Halawane, J., Nurani, L. Halidah, Kafiar, Y. & Karundeng, M. 2011. *Tumbuhan obat tradisional di sulawesi utara jilid II: Tumbuhan pakoba*. Balai Penelitian Kehutanan Manado.
- Lee, Y., Huang, W.C., Huang, K.J. & Chang, S.L. 1996. Testosterone enhances where as estrogen inhibits calcium oxalate stone formation in ethylene glycol treated rats. *The Journal of Clinical Urology*. 156(2): 502-505.
- Mokosuli, Y.S. 2008. *Aktifitas antioksidan dan antikanker ekstrak kulit batang lansat*. Tesis. IPB.
- Mekap, S.K., Mishra, S., Sahoo, S. & Panda, P.K. 2011. Antiuro lithiatic activity of *Crataeva magna* Lour. Bark. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 2(1): 28-33.
- Parmar, R.K., Kachchi, N.R., Tirgar, P. & Desai, T. 2012. Preclinical evaluation of antiuro lithiatic activity of *Swertia chirata* steam. *International Research Journal of Pharmacy*. 8(8): 198-202
- Pareta, S.K., Patra, K.C. & Harwansh, R. 2011. In-vitro calcium oxalate crystallization inhibition by *Achyranthes indica* Linn. Hydroalcoholic Extract: An approach to antilithiasis. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2(1): 432-437.
- Prasad, K.V.R.S.G., Sujatha, D. & Bharathi, K. 2007. Herbal drugs in urolithiasis: A review. *Pharmacognosy Reviews*. 1(1): 175-179.
- Sari. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah ilmu kefarmasian*. Vol III. No 1. April 2006. ISSN 1693-9883. Hal 1-7.
- Schaltdt, L., Ivens, I., Karbe, E., Rivhl-Fehlert, C. & Bomhard, E. 1998. Subacute oral toxicity of tetraethylene glycol and ethylene glycol administered in Wistar rat. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 50(3): 257-265.
- Biren, N.S., Khodidas, D., Raiyani & Modi, D.C. 2011. Antiuro lithiatic activity study of *Momordica charantia* Linn. Fruits. *International Journal of Pharmacy and Technology*. 1(1): 6-11.
- Umesh, K.R.G. & Christina, A.J.M.. 2011. Effect of *Rotola aquatic* Lour. On ethylene-glycol induced urolithiasis in rats. *International Journal of Drug Development and Research*. 3(1): 273-280.