

**SKRIPSI**  
**EFEK NEFROTOKSIK ASAM FOLAT**  
**TERHADAP TIKUS WISTAR**



**BINTANG FAJARULLAH**  
**04011281924060**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2022**

**SKRIPSI**  
**EFEK NEFROTOKSIK ASAM FOLAT**  
**TERHADAP TIKUS WISTAR**



**BINTANG FAJARULLAH**  
**04011281924060**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2022**

# **EFEK NEFROTOKSIK ASAM FOLAT TERHADAP TIKUS WISTAR**

**Skripsi**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran (S. Ked)



**BINTANG FAJARULLAH**

**04011281924060**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**2022**


**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PROFIL EFEK NEFROTOKSIK ASAM FOLAT TERHADAP**  
**TIKUS WISTAR**  
**LAPORAN AKHIR SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh  
gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Sriwijaya


Oleh:  
**Bintang Fajarullah**  
**04011281924134**

Palembang, 19 Desember 2022  
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya


Pembimbing I  
**dr. Evi Lusiana, M.Biomed**  
NIP. 198607112015042004

  
.....

Pembimbing II  
**dr. Theodorus, M.Med.Sc**  
NIP. 196009151989031005

  
.....

Penguji I  
**dr. Nia Savitri Tamzil, M.Biomed**  
NIP. 198911102015042004

  
.....

Penguji II  
**dr. Nita Parisa, M.Bmd**  
NIP. 198812132014042001

  
.....

Koordinator Program Studi  
Pendidikan Dokter



dr. Susilawati, M.Kes  
NIP 197802272010122001

Mengetahui  
Wakil Dekan I



Dr. dr. Irfannuddin, Sp. KO., M.PD. Ked  
NIP 197306131999031001

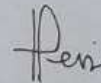
## HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa Laporan Akhir Skripsi ini dengan judul "Efek Nefrotoksik Asam Folat Terhadap Tikus Wistar" telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya pada Tanggal 19 Desember 2022.

Palembang, 19 Desember 2022

Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah berupa Laporan Akhir Skripsi

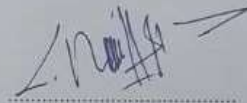
Pembimbing I  
**dr. Evi Lusiana, M.Biomed**  
NIP. 198607112015042004



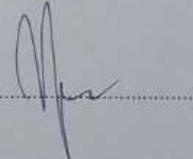
Pembimbing II  
**dr. Theodorus, M.Med.Sc**  
NIP. 196009151989031005



Penguji I  
**dr. Nia Savitri Tamzil, M.Biomed**  
NIP. 198911102015042004



Penguji II  
**dr. Nita Parisa, M.Bmd**  
NIP. 198812132014042001



Koordinator Program Studi Pendidikan  
Dokter

Mengetahui,  
Wakil Dekan I



dr. Susilawati, M.Kes  
NIP. 197802272010122001

Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO., M.Pd.Ked  
NIP. 197306131999031001



## HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bintang Fajarullah

NIM : 04011281924060

Judul : Efek Nefrotoksik Asam Folat Terhadap Tikus Wistar

Menyatakan bahwa skripsi saya merupakan hasil karya sendiri didampingi tim pembimbing dan bukan hasil penjiplakan/*plagiat*. Apabila ditemukan unsur penjiplakan/*plagiat* dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya sesuai aturan yang berlaku.

Demikian, pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.



Palembang, 19 Desember 2022



Bintang Fajarullah

## ABSTRAK

### EFEK NEFROTOKSIK ASAM FOLAT TERHADAP TIKUS WISTAR

(Bintang Fajarullah, 19 Desember 2022, 110 Halaman)  
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Sedikitnya penelitian ilmiah tentang efek induksi asam folat dosis tinggi terhadap ginjal tikus wistar dan penelitian pembuatan hewan coba model fibrosis ginjal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek nefrotoksik yang mengarah pada fibrosis ginjal pada induksi asam folat dosis tinggi terhadap tikus wistar. Penelitian ekperimental *in vivo* telah dilakukan pada bulan September-Oktober 2022 di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Terdiri dari 4 kelompok perlakuan yaitu plasebo (NaCl 0,9%), KIAF I sebesar 100 mg/kgBB, KIAF II sebesar 125 mg/kgBB, dan KIAF III sebesar 250 mg/kgBB *single dose* secara intraperitoneal dengan setiap kelompok terdapat 8 ekor tikus wistar. Analisis data dengan *Paired T test*, *Independent T test*, dan *PostHoc Test* pada aplikasi *SPSS Statistic 26*. Berat badan tikus ( $p=0,099$ ) memiliki data yang homogen. Kadar kreatinin ( $p=0,119$ ) dan kadar ureum ( $p=0,948$ ) homogen dan berdistribusi normal ( $p>0,05$ ). KIAF I ( $p=0,010$ ), KIAF II ( $p=0,000$ ), dan KIAF III ( $p=0,005$ ) efektif menaikkan rerata kadar kreatinin pada hari ke-0 dan 14. KIAF II ( $p=0,032$ ) memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan plasebo. Tidak terdapat kelompok yang menjadi dosis optimal dalam menaikkan kadar kreatinin ( $p>0,05$ ). KIAF II ( $p=0,036$ ) efektif menaikkan rerata kadar ureum pada hari ke-0 dan 14. KIAF II ( $p=0,005$ ) memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan plasebo. KIAF II ( $p=0,002$ ) menjadi dosis optimal dalam menaikkan kadar ureum. KIAF II ( $p=0,002$ ) menjadi dosis optimal dalam menaikkan kadar ureum, tetapi tidak untuk kadar kreatinin yang mengarah pada fibrosis ginjal tikus wistar.

Kata Kunci: Asam Folat, Nefrotoksik, Fibrosis Ginjal, Kreatinin, Ureum, *In Vivo*.

## ABSTRACT

### NEPHROTOXIC EFFECT OF FOLIC ACID IN WISTAR RATS

(Bintang Fajarullah, 19 December 2022, 110 Pages)  
Faculty of Medicine, Sriwijaya University

There is less scientific research about effect of inducing high doses of folic acid on the kidneys of wistar rats and research on creating animal models of kidney fibrosis. The purpose of this study was to determine the nephrotoxic effect that leads to kidney fibrosis in the induction of high doses of folic acid in wistar rats. *In vivo* experimental research was carried out in September-October 2022 at the Animal Cage of the Faculty of Medicine, University of Sriwijaya and the Palembang Health Laboratory Center. There are 4 treatment groups namely placebo (NaCl 0,9%), 100 mg/kgBW of KIAF I, 125 mg/kgBW of KIAF II, and 250 mg/kgBW of KIAF III single dose intraperitoneally of 8 wistar rats in each group. Data analysis with Paired T test, Independent T test, and PostHoc test is conducted on the SPSS Statistics 26 application. Rat body weight ( $p=0,099$ ) has homogeneous data. Creatinine levels ( $p=0,119$ ) and urea levels ( $p=0,948$ ) were homogeneous and normally distributed ( $p>0,05$ ). KIAF I ( $p=0,010$ ), KIAF II ( $p=0,000$ ), and KIAF III ( $p=0,005$ ) were effective in increasing the average creatinine level on day 0 and 14. KIAF II ( $p=0,032$ ) had a significant difference compared to placebo. There was no group which was the optimal dose in increasing creatinine levels ( $p>0,05$ ). KIAF II ( $p=0,036$ ) effectively increased the average urea level on days 0 and 14. KIAF II ( $p=0,005$ ) had a significant difference compared to placebo. KIAF II ( $p=0,002$ ) became the optimal dose in increasing urea levels. KIAF II ( $p=0,002$ ) was the optimal dose for increasing urea levels, but not for creatinine levels which led to kidney fibrosis in wistar rats.

Keywords: Folic Acid, Nephrotoxic, Kidney Fibrosis, Creatinine, Urea, *In Vivo*.



## RINGKASAN

### EFEK NEFROTOKSIK ASAM FOLAT TERHADAP TIKUS WISTAR

Karya tulis ilmiah berupa skripsi, 19 Desember 2022

Bintang Fajarullah, dibimbing oleh dr. Evi Lusiana, M.Biomed, dan dr. Theodorus, M.Med.Sc.

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya

xxi + 89 halaman, 21 tabel, 24 gambar, 6 lampiran

Sedikitnya penelitian ilmiah tentang efek induksi asam folat dosis tinggi terhadap ginjal tikus wistar dan penelitian pembuatan hewan coba model fibrosis ginjal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek nefrotoksik yang mengarah pada fibrosis ginjal pada induksi asam folat dosis tinggi terhadap tikus wistar. Penelitian ekperimental *in vivo* telah dilakukan pada bulan September-Oktober 2022 di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Terdiri dari 4 kelompok perlakuan yaitu plasebo (NaCl 0,9%), KIAF I sebesar 100 mg/kgBB, KIAF II sebesar 125 mg/kgBB, dan KIAF III sebesar 250 mg/kgBB *single dose* secara intraperitoneal dengan setiap kelompok terdapat 8 ekor tikus wistar. Pada hari ke-0, 3, 7, dan 14, semua tikus wistar pada setiap kelompok diambil sampel darah dari plexus retroorbitalis. Analisis data dengan *Paired T test*, *Independent T test*, dan *PostHoc Test* pada aplikasi *SPSS Statistic 26*. Uji homogenitas berat badan tikus ( $p=0,099$ ), kadar kreatinin ( $p=0,119$ ), dan kadar ureum ( $p=0,948$ ) didapatkan data yang homogen. Uji normalitas kadar kreatinin dan ureum didapatkan hasil distribusi data normal ( $p>0,05$ ). KIAF III ( $p=0,016$ ) signifikan menaikkan rerata kadar kreatinin pada hari ke-0 dan 3. KIAF III ( $p=0,002$ ) efektif menaikkan rerata kadar kreatinin pada hari ke-3 dan 7. KIAF I ( $p=0,006$ ), KIAF II ( $p=0,000$ ), KIAF III ( $p=0,007$ ), dan plasebo ( $p=0,026$ ) efektif menaikkan rerata kadar kreatinin pada hari ke-7 dan 14. KIAF I ( $p=0,010$ ), KIAF II ( $p=0,000$ ), KIAF III ( $p=0,005$ ), dan plasebo ( $p=0,003$ ) efektif menaikkan rerata kadar kreatinin pada hari ke-0 dan 14. KIAF II ( $p=0,032$ ) memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan plasebo. Tidak terdapat kelompok yang menjadi dosis optimal dalam menaikkan kadar kreatinin ( $p>0,05$ ). Plasebo ( $p=0,013$ ) efektif menaikkan rerata kadar ureum pada hari ke-0 dan hari ke-3. KIAF I ( $p=0,014$ ), KIAF II ( $p=0,012$ ), KIAF III ( $p=0,002$ ), dan plasebo ( $p=0,019$ ) efektif menaikkan rerata kadar ureum pada hari ke-3 dan 7. KIAF II ( $p=0,016$ ) dan KIAF III ( $p=0,010$ ) efektif menaikkan rerata kadar ureum pada hari ke-7 dan 14. KIAF II ( $p=0,036$ ) efektif menaikkan rerata kadar ureum pada hari ke-0 dan 14. KIAF II ( $p=0,005$ ) memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan plasebo. KIAF II ( $p=0,002$ ) menjadi dosis optimal dalam menaikkan kadar ureum. KIAF II ( $p=0,002$ ) menjadi dosis optimal dalam menaikkan kadar ureum, tetapi tidak untuk kadar kreatinin yang mengarah pada fibrosis ginjal tikus wistar.

**Kata Kunci** : Asam Folat, Nefrotoksik, Fibrosis Ginjal, Kreatinin, Ureum, *In Vivo*.

Sitasi : 66

## SUMMARY

### NEPHROTOXIC EFFECT OF FOLIC ACID ON WISTAR RATS

Scientific writing in the form of a thesis, 19 December 2022

Bintang Fajarullah, dr. Evi Lusiana, M.Biomed, and dr. Theodorus, M.Med.Sc.

Medical Education Study Program, Faculty of Medicine, Sriwijaya University

xxi + 89 pages, 21 tabels, 24 figures, 6 attachments

There is less scientific research about effect of inducing high doses of folic acid on the kidneys of wistar rats and research on creating animal models of kidney fibrosis. The purpose of this study was to determine the nephrotoxic effect that leads to kidney fibrosis in the induction of high doses of folic acid in wistar rats. *In vivo* experimental research was carried out in September-October 2022 at the Animal Cage of the Faculty of Medicine, University of Sriwijaya and the Palembang Health Laboratory Center. There are 4 treatment groups namely placebo (NaCl 0,9%), 100 mg/kgBW of KIAF I, 125 mg/kgBW of KIAF II, and 250 mg/kgBW of KIAF III single dose intraperitoneally of 8 wistar rats in each group. On days 0, 3, 7, and 14, all wistar rats in each group blood samples are taken from the retroorbital plexus. Data analysis with Paired T test, Independent T test, and PostHoc test is conducted on the SPSS Statistics 26 application. Homogeneity test of rat body weight ( $p=0,099$ ), creatinine level ( $p=0,119$ ), and urea level ( $p=0,948$ ) obtained homogeneous data. The normality test for creatinine and urea levels showed normal data distribution ( $p>0,05$ ). KIAF III ( $p=0,016$ ) significantly increased the mean creatinine level on days 0 and 3. KIAF III ( $p=0,002$ ) effectively increased the mean creatinine level on days 3 and 7. KIAF I ( $p=0,006$ ), KIAF II ( $p=0,000$ ), KIAF III ( $p=0,007$ ), and placebo ( $p=0,026$ ) effectively increased the mean creatinine levels on days 7 and 14. KIAF I ( $p=0,010$ ), KIAF II ( $p=0,000$ ), KIAF III ( $p=0,005$ ), and placebo ( $p=0,003$ ) effectively increased the mean creatinine levels on days 0 and 14. KIAF II ( $p=0,032$ ) had a significant difference compared to placebo. There was no group which was the optimal dose in increasing creatinine levels ( $p>0,05$ ). Placebo ( $p=0,013$ ) effectively increased the mean urea level on day 0 and day 3. KIAF I ( $p=0,014$ ), KIAF II ( $p=0,012$ ), KIAF III ( $p=0,002$ ), and placebo ( $p=0,019$ ) were effective in increasing the mean urea level on days 3 and 7. KIAF II ( $p=0,016$ ) and KIAF III ( $p=0,010$ ) effectively increased the mean urea level on days 7 and 14. KIAF II ( $p=0,036$ ) effectively increased the mean urea level on days 0 and 14. KIAF II ( $p=0,005$ ) had significant difference compared to placebo. KIAF II ( $p=0,002$ ) became the optimal dose in increasing urea levels. KIAF II ( $p=0,002$ ) was the optimal dose for increasing urea levels, but not for creatinine levels which led to kidney fibrosis in wistar rats.

**Keywords** : Folic Acid, Nephrotoxic, Kidney Fibrosis, Creatinine, Ureum, In Vivo  
**Citations** : 66

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah SWT. karena atas rahmat dan hidayah-Nya, karya tulis yang berjudul “Efek Nefrotoksik Asam Folat Terhadap Tikus Wistar” dapat diselesaikan dengan baik. Karya tulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada Program Pendidikan Dokter Umum, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.

Terima kasih kepada dr. Evi Lusiana, M.Biomed dan dr. Theodorus, M.Med.Sc atas ilmu yang diberikan serta kesabaran dan kesediaan meluangkan waktu untuk membimbing hingga karya tulis ini selesai dibuat. Terima kasih kepada dr. Nia Savitri Tamzil, M.Biomed dan dr. Nita Parisa M.Bmd sebagai penguji yang telah memberikan masukan dan perbaikan dalam penyusunan karya tulis ini. Tak lupa ucapan terima kasih kepada Mama, Papa, Adek serta keluarga besarku yang selalu mendukung dan memberi motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini. Tak lupa juga terima kasih untuk sahabatku yang selalu memberi motivasi serta kepada teman-teman Galvantula dan Carbonite yang memberikan support dalam proses pembuatan skripsi ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih banyak kekurangan dalam skripsi ini, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis maupun pembaca dan dapat menjadi rujukan bagi penelitian selanjutnya.

Palembang, 19 Desember 2022



Bintang Fajarullah

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bintang Fajarullah

NIM : 04011281924060

Judul : Efek Nefrotoksik Asam Folat Terhadap Tikus Wistar

Memberikan izin kepada pembimbing dan Universitas Sriwijaya untuk mempublikasikan hasil penelitian saya untuk kepentingan akademik apabila dalam waktu 1 (satu) tahun tidak mempublikasikan karya penelitian saya. Dalam kasus ini saya setuju untuk menempatkan pembimbing sebagai penulis korespodensi (*Corresponding author*).

Demikian, pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.

Palembang, 19 Desember 2022



Bintang Fajarullah

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
RINGKASAN.....	ix
SUMMARY.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	xii
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
DAFTAR SINGKATAN.....	xx
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
1.5.1 Manfaat Teoritis.....	3
1.5.2 Manfaat Tatalaksana.....	4

1.5.3	Manfaat Masyarakat.....	4
<b>BAB 2</b>	<b>TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1	Ginjal.....	5
2.1.1	Anatomi dan Fisiologi Ginjal.....	5
2.1.2	Histologi Ginjal.....	10
2.2	Asam Folat .....	14
2.2.1	Sifat Fisika dan Kimia Asam Folat .....	15
2.2.2	Farmakokinetik Asam Folat.....	16
2.2.3	Patomekanisme Nefrotoksisitas Asam Folat.....	18
2.2.4	Biomarker Nefrotoksisitas Asam Folat.....	27
2.3	Hewan Coba Tikus Wistar .....	31
2.4	Model Hewan Coba Nefrotoksik .....	32
2.5	Kerangka Teori.....	34
2.6	Kerangka Konsep .....	35
<b>BAB 3</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>36</b>
3.1	Jenis Penelitian.....	36
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian .....	36
3.3	Populasi dan Sampel .....	36
3.3.1	Populasi.....	36
3.3.2	Sampel.....	36
3.4	Variabel Penelitian .....	37
3.4.1	Variabel Dependen.....	37
3.4.2	Variabel Independen .....	37
3.5	Definisi Operasional.....	38
3.6	Cara Pengumpulan Data.....	39
3.6.1	Alat dan Bahan .....	39
3.6.2	Persiapan dan Aklimatisasi Hewan Coba .....	39
3.6.3	Perhitungan Dosis .....	40
3.6.4	Cara Pengumpulan Data.....	40
3.7	Cara Pengolahan dan Analisis Data .....	41
3.9	Alur Penelitian .....	43
<b>BAB 4</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>44</b>
4.1	Uji Homogenitas Berat Badan .....	44
4.2	Kadar Kreatinin.....	45

4.2.1 Uji Homogenitas dan Normalitas Kadar Kreatinin .....	45
4.2.2 Efek Nefrotoksik dalam Kelompok terhadap Kadar Kreatinin.....	46
4.2.3 Perbedaan Antar Kelompok terhadap Kadar Kreatinin .....	47
4.2.4 Uji Kesesuaian Injeksi Asam Folat terhadap Kadar Kreatinin Pada Tikus Wistar .....	49
4.3 Kadar Ureum.....	49
4.3.1 Uji Homogenitas dan Normalitas Kadar Ureum.....	49
4.3.2 Efek Nefrotoksik dalam Kelompok terhadap Kadar Ureum.....	50
4.3.3 Perbedaan Antar Kelompok terhadap Kadar Ureum .....	52
4.3.4 Uji Kesesuaian Injeksi Asam Folat terhadap Kadar Ureum Pada Tikus Wistar .....	53
4.4 Uji Korelasi Pearson Dosis Tiap Kelompok dengan Kadar Kreatinin dan Ureum .....	54
4.5 Pembahasan.....	54
4.6 Keterbatasan Penelitian .....	59
BAB 5 SIMPULAN DAN SARAN .....	60
5.1 Simpulan .....	60
5.2 Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA .....	61
LAMPIRAN .....	68
RIWAYAT HIDUP.....	83

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1. Definisi Operasional.....	38
4.1. Uji Homogenitas Berat Badan Antara Kelompok Intervensi.....	45
4.2. Uji Homogenitas Kadar Kreatinin Sebelum Perlakuan Antara Kelompok Intervensi.....	45
4.3. Uji Normalitas Kadar Kreatinin Antara Kelompok Intervensi .....	46
4.4. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Kreatinin Pada Hari ke-0 dan Hari ke-3 Antara Kelompok Intervensi .....	46
4.5. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Kreatinin Pada Hari ke-3 dan Hari ke-7 Antara Kelompok Intervensi .....	47
4.6. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Kreatinin Pada Hari ke-7 dan Hari ke-14 Antara Kelompok Intervensi .....	47
4.7. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Kreatinin Pada Hari ke-0 dan Hari ke-14 Antara Kelompok Intervensi .....	47
4.8. Uji Homogenitas Kadar Kreatinin Setelah Perlakuan Antara Kelompok Intervensi.....	48
4.9. Perbandingan Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Kreatinin Sesudah Intervensi (Hari ke-14) .....	48
4.10. Uji Kesesuaian Efek Nefrotoksik Asam Folat dalam Menaikkan Kadar Kreatinin .....	49
4.11. Uji Homogenitas Kadar Ureum Sebelum Perlakuan Antara Kelompok Intervensi.....	50
4.12. Uji Normalitas Kadar Ureum Antara Kelompok Intervensi .....	50
4.13. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Ureum Pada Hari ke-0 dan Hari ke-3 Antara Kelompok Intervensi .....	51
4.14. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Ureum Pada Hari ke-3 dan Hari ke-7 Antara Kelompok Intervensi .....	51
4.15. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Ureum Pada Hari ke-7 dan Hari ke-14 Antara Kelompok Intervensi .....	51



4.16. Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Ureum Pada Hari ke-0 dan Hari ke-14 Antara Kelompok Intervensi.....	51
4.17. Uji Homogenitas Kadar Ureum Setelah Perlakuan Antara Kelompok Intervensi.....	52
4.18. Perbandingan Efek Nefrotoksik Asam Folat terhadap Kadar Ureum Sesudah Intervensi (Hari ke-14) .....	53
4.19. Uji Kesesuaian Efek Nefrotoksik Asam Folat dalam Meningkatkan Kadar Ureum .....	53
4.20. Korelasi Dosis Tiap Kelompok dengan Kadar Kreatinin dan Ureum Hari ke-14 .....	54

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Ginjal Sisi Kiri Tampilan Ventral dan Pemotongan Vertikal .....	5
2.2. Nefron .....	6
2.3. Proses Dasar Pada Ginjal .....	7
2.4. Tahap-Tahap Transpot Transepitel .....	8
2.5. Reabsorpsi Natrium.....	9
2.6. Nefron Ginjal .....	10
2.7. Korteks Ginjal: Tubulus Proksimal dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin	11
2.8. Korteks Ginjal: Tubulus Distal <sup>20</sup> .....	12
2.9. Skema Komponen ECM Glomerulus Sehat dengan Pewarnaan PAS .....	13
2.10. Skema Komponen ECM Tubulointerstitial Sehat dengan Pewarnaan PAS .....	13
2.11. Skema Komponen Arteri Renalis Sehat dengan Pewarnaan PAS .....	14
2.12. Struktur Asam Folat .....	16
2.13. Adsorpsi Asam Folat, Transpor, dan Penyerapan Seluler.....	17
2.14. Gambaran Histopatologi Glomerulosklerosis dengan Pewarnaan PAS .....	20
2.15. Skema Perubahan Komponen Tubulointerstitial Selama Fibrosis dengan Pewarnaan PAS .....	20
2.16. Skema Perubahan Komponen Arteri Renalis Selama Fibrosis dengan Pewarnaan PAS .....	21
2.17. Tikus Kelompok Asam Folat Diberikan Injeksi Asam Folat Secara Intraperitoneal dengan Dosis Tunggal 250 mg/kg Berat Badan.....	23
2.18. Tubulus Kontortus Proksimal .....	24
2.19. Mekanisme Patologis GGA dan PGK yang Diinduksi Asam Folat.....	27
2.20. Metabolisme Kreatinin.....	29
2.21. Adsorpsi, Metabolisme, dan Ekskresi Urea .....	30
2.22. Kerangka Teori.....	34
2.23. Kerangka Konsep .....	35
3.1 Alur Penelitian .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi Proses Penelitian .....	68
2. Output Pengolahan Data SPSS .....	69
3. Sertifikat Kelayakan Etik .....	79
4. Lembar Konsultasi .....	80
5. Hasil Pemeriksaan Similarity Checking (Turnitin).....	81
6. Persetujuan Untuk Sidang Skripsi.....	82

## DAFTAR SINGKATAN

ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
DFE	: <i>Dietary Food Folate Equivalents</i>
DFHR	: <i>Dihydrofolate Reductase</i>
DHF	: <i>Dihydrofolate</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
FAIG	: <i>FA (folic acid) Injection Group</i>
FGF23	: <i>Fibroblast Growth Factor 23</i>
FLC	: <i>Ferritin Light Chain</i>
FPGS	: <i>Folylpoly-Gamma Glutamat Sintetase</i>
FRs	: <i>Folate Receptors</i>
FTH	: <i>Ferritin Heavy Chain</i>
GCPII	: <i>Glutamat Carboxypeptidase II</i>
GGA	: <i>Gagal Ginjal Akut</i>
GSH	: <i>Glutathione</i>
HSPG	: <i>Heparan Sulfate Proteoglikan</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
LC-3I	: <i>Light Chain 3I</i>
LFG	: <i>Laju Filtrasi Glomerulus</i>
LPO	: <i>Lipid Peroxide</i>
MRP	: <i>Multidrug Resistance-Associated Protein</i>
NLRP3	: <i>Nucleotide-Binding Domain Andleucine-Rich Repeat Pyrin Containing Protein-3</i>
PABA	: <i>Para-Aminobenzoat Acid</i>
PAS	: <i>Periodic Acid Schiff</i>
PCFT	: <i>Proton-Coupled Folate Transporter</i>
PGK	: <i>Penyakit Ginjal Kronis</i>
PINK1	: <i>PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog)-Induced Putative Kinase 1</i>

RDA	: <i>The Recommended Daily Allowance</i>
RFC	: <i>Reduced Folate Carrier</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TGF- $\beta$ 1	: <i>Transforming Growth Factor <math>\beta</math>1</i>
THF	: <i>Tetrahydrofolate</i>
TLR	: <i>Toll-Like Receptors</i>

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Ginjal merupakan organ tubuh yang dapat melakukan berbagai fungsi penting seperti detoksifikasi, pengaturan cairan ekstraseluler, homeostasis, dan ekskresi metabolit toksik. Nefrotoksisitas dapat diartikan sebagai penurunan fungsi ginjal yang cepat akibat efek toksik dari bahan kimia dan obat.<sup>1</sup> Maka dari itu, nefrotoksisitas obat adalah penurunan fungsi ginjal yang cepat yang disebabkan oleh obat. Sekitar 20% nefrotoksisitas disebabkan oleh obat-obatan dan persentase ini dapat meningkat hingga 66% pada orang tua dengan bertambahnya usia dan penggunaan banyak obat.<sup>1</sup> Nefrotoksisitas obat menjadi faktor utama penyebab 60% kasus gagal ginjal akut (GGA) pada pasien rawat inap.<sup>2</sup>

Keadaan GGA dapat diketahui dengan memeriksa kadar biomarker, seperti kreatinin dan ureum. Secara patologis, GGA ditandai dengan cedera dan kematian sel epitel tubulus. Saat mengalami cedera, sel epitel tubulus yang masih hidup mengalami dediferensiasi untuk proliferasi dan perbaikan ginjal. Akan tetapi, perbaikannya tidak lengkap atau maladaptif sehingga menimbulkan perkembangan patologi kronis (misalnya fibrosis interstitial) dan berkembang menjadi penyakit ginjal kronis (PGK).<sup>3</sup> Gambaran histologi umum dan titik akhir PGK adalah fibrosis ginjal, yang didefinisikan sebagai akumulasi patologis *extracellular matrix* (ECM) yang berlebihan dan patologis.<sup>4</sup>

Fibrosis ginjal merupakan karakteristik gambaran histologi umum dari PGK yang mengarah ke penyakit ginjal stadium akhir.<sup>5</sup> Pada fibrosis ginjal terjadi akumulasi patologis *extracellular matrix* (ECM) yang berlebihan dan produksi jaringan parut yang kaya kolagen secara progresif terakumulasi di ruang interstitial dan dinding kapiler glomerulus akan mengganggu fungsi normal sel epitel tubulus, sel fungsional utama di ginjal. Sifat kontraktile dari jaringan parut meningkatkan disfungsi jaringan dan mempercepat fibrosis ginjal menjadi gagal ginjal stadium akhir serta satu-satunya pilihan adalah dialisis atau transplantasi ginjal.<sup>6</sup>

Fibrosis ginjal ditandai dengan penurunan LFG secara progresif, yang berpuncak pada hilangnya fungsi ginjal secara bertahap.<sup>7</sup> PGK dapat dipercepat oleh berbagai faktor risiko seperti toksisitas obat, obesitas, hipertensi, diabetes, dan peradangan kronis.<sup>8-10</sup> Fibrosis ginjal dapat dilihat melalui pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan hematoxilin eosin.<sup>11</sup>

Selama bertahun-tahun, peneliti menggunakan model hewan dalam membantu pemahaman mengenai dasar patogenesis suatu penyakit, seperti penyakit ginjal. Model hewan bisa diinduksi penyakit ginjal untuk menguji efektivitas maupun toksisitas suatu senyawa atau agen farmakologis yang dapat dinilai secara kuantitatif.<sup>12-14</sup>

Pada tahun 1969, ditemukan laporan pertama di Jerman mengenai cedera ginjal disebabkan asam folat. Hal ini membuat studi pada konsep "toksisitas asam folat pada ginjal" dan "nefropati folat" pada tahun 1970.<sup>15</sup> Pada tahun 2015, Jiang *et al* melakukan studi menggunakan tikus untuk diinduksi dosis tunggal asam folat 250 mg/kgBB secara intraperitoneal. Kadar kreatinin dan ureum meningkat secara signifikan pada hari ke-3 setelah injeksi asam folat. Selain itu, terjadi peningkatan yang signifikan akumulasi fibrosis di ginjal dan peningkatan signifikan ekspresi TGF- $\beta$ 1 dan MCP-1.<sup>16</sup>

Asam folat bertindak sebagai agen nefrotoksik dengan menyebabkan nefrotoksisitas pada tubulus ginjal akibat obstruksi. Kristal asam folat secara kolektif beragregasi membentuk gumpalan sehingga mampu memblokir tubulus proksimal ginjal.<sup>15</sup> Hal ini akan menyebabkan cedera sel tubulus, inflamasi, fibrosis, dan kematian sel, yang merupakan tahap awal terjadinya GGA dan dapat mempercepat berkembang menjadi PGK.<sup>17</sup>

Model hewan asam folat relevan secara klinis karena overdosis asam folat yang tidak disengaja, akibat mudahnya mendapat asam folat dan perilaku masyarakat yang cenderung mengonsumsi obat sendiri tanpa melalui resep dokter, dapat menyebabkan GGA pada manusia yang meliputi peradangan, fibrosis ginjal, dan kematian sel yang terlihat pada model tikus yang diinduksi asam folat.<sup>15</sup>

Sampai sekarang masih sedikit penelitian ilmiah tentang efek induksi asam folat dosis tinggi terhadap ginjal tikus wistar. Penelitian pembuatan hewan coba

model fibrosis ginjal menggunakan asam folat juga masih sedikit. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai efek nefrotoksik asam folat dosis tinggi pada ginjal tikus wistar sebagai salah satu parameter dalam hewan coba model fibrosis ginjal.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana efek nefrotoksik induksi asam folat dosis tinggi terhadap ginjal tikus wistar?
2. Berapakah dosis asam folat yang dapat menyebabkan efek nefrotoksik pada ginjal tikus wistar?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui efek nefrotoksik yang mengarah pada fibrosis ginjal pada induksi asam folat dosis tinggi terhadap tikus wistar.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengetahui perbedaan hasil pengukuran kadar kreatinin dan ureum pada setiap kelompok tikus wistar yang diinduksi asam folat.
2. Mengetahui dosis asam folat yang menyebabkan nefrotoksik yang mengarah pada fibrosis ginjal pada tikus wistar.

## **1.4 Hipotesis**

$H_0$  : Tidak ada efek nefrotoksik asam folat pada tikus wistar.

$H_1$  : Ada efek nefrotoksik asam folat pada tikus wistar.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Manfaat Teoritis**

Manfaat dari penelitian ini dapat mengetahui efek nefrotoksik induksi asam folat dosis tinggi terhadap ginjal tikus wistar dan dapat menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya.



### **1.5.2 Manfaat Tatalaksana**

Hasil penelitian dapat menjadikan asam folat sebagai referensi bahan induksi penelitian tikus model fibrosis ginjal.

### **1.5.3 Manfaat Masyarakat**

Manfaat penelitian ini agar masyarakat lebih waspada terhadap penggunaan asam folat dengan dosis tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Al-Naimi M, Rasheed H, Hussien N, Al-Kuraishy H, Al-Gareeb A. Nephrotoxicity: Role and significance of renal biomarkers in the early detection of acute renal injury. *J Adv Pharm Technol Res.* 2019;10(3):95–9.
2. Khajavi Rad A, Mohebbati R, Hosseinian S. Drug-induced nephrotoxicity and medicinal plants. *Iran J Kidney Dis.* 2017;11(3):169–79.
3. Fu Y, Tang C, Cai J, Chen G, Zhang D, Dong Z. Rodent models of AKI-CKD transition. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2018;315(4):F1098–106.
4. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O’Callaghan CA, Lasserson DS, et al. Global prevalence of chronic kidney disease - A systematic review and meta-analysis. Vol. 11, *PLoS ONE.* 2016.
5. Zhang Y, Mou Y, Zhang J, Suo C, Zhou H, Gu M, et al. Therapeutic Implications of Ferroptosis in Renal Fibrosis. *Front Mol Biosci.* 2022;9(May):1–21.
6. Ovadya Y, Krizhanovsky V. A new Twist in kidney fibrosis. *Nat Med.* 2015;21(9):975–7.
7. Levey AS, Becker C, Inker LA. Glomerular filtration rate and albuminuria. Systematic Review. *Jama.* 2015;313(8):837–46.
8. Huang J, Bayliss G, Zhuang S. Porcine models of acute kidney injury. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2021;320(6):F1030–44.
9. Chintam K, Chang AR. Strategies to Treat Obesity in Patients With CKD. *Am J Kidney Dis.* 2021;77(3):427–39.
10. Stenvinkel P, Chertow GM, Devarajan P, Levin A, Andreoli SP, Bangalore S, et al. Chronic Inflammation in Chronic Kidney Disease Progression: Role of Nrf2. *Kidney Int Reports [Internet].* 2021;6(7):1775–87.
11. Bülow RD, Boor P. Extracellular Matrix in Kidney Fibrosis: More Than Just

- a Scaffold. *J Histochem Cytochem.* 2019;67(9):643–61.
12. Nogueira A, Pires MJ, Oliveira PA. Pathophysiological mechanisms of renal fibrosis: A review of animal models and therapeutic strategies. *In Vivo (Brooklyn).* 2017;31(1):1–22.
  13. Fu Y, Tang C, Cai J, Chen G, Zhang D. Rodent models of AKI-CKD transition. 2018.
  14. Bao YW, Yuan Y, Chen JH, Lin WQ. Kidney disease models: tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets. *Zool Res.* 2018;39(2):72–86.
  15. Yan LJ. Folic acid-induced animal model of kidney disease. *Anim Model Exp Med.* 2021;4(4):329–42.
  16. Jiang C, Shao Q, Jin B, Gong R, Zhang M, Xu B. Tanshinone IIA attenuates renal fibrosis after acute kidney injury in a mouse model through inhibition of fibrocytes recruitment. *Biomed Res Int.* 2015;2015.
  17. González-Guerrero C, Morgado-Pascual JL, Cannata-Ortiz P, Ramos-Barron MA, Gómez-Alamillo C, Arias M, et al. CCL20 blockade increases the severity of nephrotoxic folic acid-induced acute kidney injury. *J Pathol.* 2018;246(2):191–204.
  18. Hellfritzsch MB. General Anatomy and Musculoskeletal System. *Acta radiol.* 2015;56(4):NP24–NP24.
  19. Solandt DY. Introduction to Human Physiology. *Am J Public Heal Nations Heal.* 2013;38(11):1590–1590.
  20. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. Vol. 14th, Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. 2016. 573 p.
  21. Maynard, Robert Lewis; Downes N. Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research. *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research.*

2019. 376 p.
22. Liew SC. Folic acid and diseases - Supplement it or not? *Rev Assoc Med Bras.* 2016;62(1):90–100.
  23. Watanabe H, Miyake T. Folic and Folate Acid. *Funct Food - Improv Heal through Adequate Food.* 2017.
  24. Munezero E. Enhancing Folic Acid Dietary Intervention Research in Mouse Models By Esther Munezero A thesis submitted to the Faculty of Graduate and Postdoctoral Affairs in Partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in Biology. 2021.
  25. Information NC for B, Medicine USNL of, Pike 8600 Rockville, Bethesda, MD20894, USA. folic acid | C19H19N7O6 - PubChem.
  26. Drugs.com. Tranexamic Acid Injection - FDA prescribing information, side effects and uses. 2021.
  27. Fluoxetine - FDA prescribing information, side effects and uses [Internet]. 2016.
  28. Locasale JW. Serine, Glycine and the one-carbon cycle. *Nat Rev Cancer.* 2013;13(8):572–83.
  29. Pastor-Valero M, Navarrete-Muoz EM, Rebagliato M, Iñiguez C, Murcia M, Marco A, et al. Periconceptional folic acid supplementation and anthropometric measures at birth in a cohort of pregnant women in Valencia, Spain. *Br J Nutr.* 2011;105(9):1352–60.
  30. Froese DS, Fowler B, Baumgartner MR. Vitamin B12, folate, and the methionine remethylation cycle—biochemistry, pathways, and regulation. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42(4):673–85.
  31. Ebara S. Nutritional role of folate. *Congenit Anom (Kyoto).* 2017;57(5):138–41.
  32. Shams A. Folates: An Introduction. *B-Complex Vitam - Sources, Intakes*

- Nov Appl. 2022;(January).
33. ODS. Folate - Health Professional Fact Sheet [Internet]. Office of Dietary Supplements (ODS). 2020.
  34. Tiong HY, Huang P, Xiong S, Li Y, Vathsala A, Zink D. Drug-induced nephrotoxicity: Clinical impact and preclinical in vitro models. *Mol Pharm.* 2014;11(7):1933–48.
  35. Cho MH. Renal fibrosis. *Korean J Pediatr.* 2010;53(7):735–40.
  36. Perales-Quintana MM, Saucedo AL, Lucio-Gutiérrez JR, Waksman N, Alarcon-Galvan G, Govea-Torres G, et al. Metabolomic and biochemical characterization of a new model of the transition of acute kidney injury to chronic kidney disease induced by folic acid. *PeerJ.* 2019;7:1–26.
  37. Yang HC, Zuo Y, Fogo AB. Models of chronic kidney disease. *Drug Discov Today Dis Model.* 2010;7(1–2):13–9.
  38. Nikolic T, Petrovic D, Matic S, Turnic TN, Jeremic J, Radonjic K, et al. The influence of folic acid-induced acute kidney injury on cardiac function and redox status in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2020;393(1):99–109.
  39. Kumar D, Singla SK, Puri V, Puri S. The restrained expression of NF- $\kappa$ B in renal tissue ameliorates folic acid induced acute kidney injury in mice. *PLoS One.* 2015;10(1):1–23.
  40. Aparicio-Trejo OE, Avila-Rojas SH, Tapia E, Rojas-Morales P, León-Contreras JC, Martínez-Klimova E, et al. Chronic impairment of mitochondrial bioenergetics and  $\beta$ -oxidation promotes experimental AKI-to-CKD transition induced by folic acid. *Free Radic Biol Med.* 2020;154(February):18–32.
  41. Li X, Zou Y, Fu YY, Xing J, Wang KY, Wan PZ, et al. A-Lipoic Acid Alleviates Folic Acid-Induced Renal Damage Through Inhibition of

- Ferroptosis. *Front Physiol.* 2021;12(September).
42. Hsu YH, Chuang HC, Lee YH, Lin YF, Chiu YJ, Wang YL, et al. Induction of fibrosis and autophagy in kidney cells by vinyl chloride. *Cells.* 2019;8(6).
  43. AO H. BUN and Creatinine - Clinical Methods - NCBI Bookshelf. 1990.
  44. Mulay SR, Shi C, Ma X, Anders HJ. Novel Insights into Crystal-Induced Kidney Injury. *Kidney Dis.* 2018;4(2):49–57.
  45. Lindquist JA, Mertens PR. Translational Nephrology: Taking Aim at Tubular Debris. *J Clin Exp Nephrol.* 2016;01(02):8–13.
  46. Al Shoyaib A, Archie SR, Karamyan VT. Intraperitoneal Route of Drug Administration: Should it Be Used in Experimental Animal Studies? *Pharm Res.* 2020;37(1):1–30.
  47. Kashani K, Rosner MH, Ostermann M. Creatinine: From physiology to clinical application. *Eur J Intern Med.* 2020;72(July):9–14.
  48. Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology E-Book.* 2020.
  49. Mendelssohn DC, Barrett BJ, Brownscombe LM, Ethier J, Greenberg DE, Kanani SD, et al. Elevated levels of serum creatinine: Recommendations for management and referral. *Cmaj.* 1999;161(4):413–7.
  50. Shahbaz H, Gupta M. Creatinine Clearance - StatPearls - NCBI Bookshelf. *StatPearls.* 2020.
  51. Brosius FC, Alpers CE, Bottinger EP, Breyer MD, Coffman TM, Gurley SB, et al. Mouse models of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20(12):2503–12.
  52. Thammitiyagodage MG, De Silva NR, Rathnayake C, Karunakaran R, Wgss K, Gunatillka MM, et al. Biochemical and histopathological changes in Wistar rats after consumption of boiled and un-boiled water from high and low disease prevalent areas for chronic kidney disease of unknown etiology

- (CKDu) in north Central Province (NCP) and its comparison with. *BMC Nephrol.* 2020;21(1):1–12.
53. Andersen ML, Winter LMF. Animal models in biological and biomedical research - experimental and ethical concerns. *Anim Model Biol Biomed Res - Exp ethical concerns.* 2019;91(1):1–14.
  54. Rydell-Törmänen K, Johnson JR. The applicability of mouse models to the study of human disease. *Methods Mol Biol.* 2019;1940:3–22.
  55. Institute NHGR. Background on Mouse as a Model Organism.
  56. Perlman RL. Mouse Models of Human Disease: An Evolutionary Perspective. *Evol Med Public Heal.* 2016;eow014.
  57. Sengupta P. The laboratory rat: Relating its age with human's. *Int J Prev Med.* 2013;4(6):624–30.
  58. Schoch CL, Ciufo S, Domrachev M, Hotton CL, Kannan S, Khovanskaya R, et al. NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database.* 2020;2020(2):1–21.
  59. Ufaw THE, On H. The UFAW handbook on the care and management of laboratory animals. Vol. 11, Food and Cosmetics Toxicology. 1973. 890 p.
  60. Kim SY, Moon A. Drug-induced nephrotoxicity and its biomarkers. *Biomol Ther.* 2012;20(3):268–72.
  61. del Valle Bessone C, Fajreldines HD, de Barboza GED, Tolosa de Talamoni NG, Allemandi DA, Carpentieri AR, et al. Protective role of melatonin on retinal ganglion cell: In vitro and in vivo evidences. *Life Sci.* 2019;218(November 2018):233–40.
  62. Gupta A, Puri V, Sharma R, Puri S. Folic acid induces acute renal failure (ARF) by enhancing renal prooxidant state. *Exp Toxicol Pathol.* 2012;64(3):225–32.
  63. Rahmi RT, Priyono SH, Rosida A. Perbedaan Kadar Kreatinin Sebelum Dan

Sesudah Kemoterapi Berbasis Platinum. 2020;3:395–400.

64. Koseki K, Maekawa Y, Bito T, Yabuta Y, Watanabe F. High-dose folic acid supplementation results in significant accumulation of unmetabolized homocysteine, leading to severe oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Redox Biol.* 2020;37(September):101724.
65. Ayuningtyas NA, Fajar Trianto H, Fitrianingrum I. Nephrotoxic effects of 70% ethanol extract. karamunting leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) on serum ureum and creatinine levels of wistar strain rats. *J Cerebellum.* 2015;1(4):293–305.
66. Purnasari C, Manggau MA, Kasim H. Studi Pengaruh Dosis Dan Lama Penggunaan Terapi Aminoglikosida Terhadap Fungsi Ginjal. *Maj Farm dan Farmakol.* 2019;22(3):76–80.