



**EFEK MINUMAN BERENERGI TERHADAP HISTOPATOLOGIS GINJAL  
TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)**

Oleh

Jihadul Hanif Fadlur Rohman<sup>1)</sup>, Sunarno<sup>2)</sup>, Sri Isdadiyanto<sup>3)</sup> & Siti Muflichatun Mardiaty<sup>4)</sup>

<sup>1,2,3,4</sup>Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro;

Jl. Prof. Soedarto, SH Tembalang, Semarang 50275, telp/fax: (024) 70799494

email: <sup>1</sup>[hanif7up.2@gmail.com](mailto:hanif7up.2@gmail.com), <sup>2</sup>[sunzen07@gmail.com](mailto:sunzen07@gmail.com), <sup>3</sup>[isdadiyanto@yahoo.com](mailto:isdadiyanto@yahoo.com) &

<sup>4</sup>[sitimuflichatunmardiaty@gmail.com](mailto:sitimuflichatunmardiaty@gmail.com)

**Abstrak**

Minuman berenergi merupakan minuman ringan yang memiliki bahan utama berupa kafein. Senyawa kafein dapat menyebabkan peningkatan tekanan darah, dan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga dapat menyebabkan ginjal stres. Berdasarkan potensi terjadinya kerusakan ginjal akibat paparan senyawa tersebut, dilakukan penelitian dengan tujuan mengkaji efek minuman berenergi terhadap perubahan struktur histologis ginjal tikus putih setelah mengonsumsi minuman berenergi, yang meliputi bobot ginjal, diameter glomerulus, ukuran sel epitel kapsula bowman, ukuran sel epitel tubulus proksimal dan sel epitel tubulus distal. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas 5 perlakuan dan 4 kali ulangan, yaitu P0, P1, P2, P3 dan P4 secara berurutan adalah kontrol, tikus putih diberikan minuman berenergi 76 mg, 152 mg, 228 mg, dan 304 mg/200 g BB/hari. Pemberian pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut *Duncan Multi Range Test* ( $P < 0,05$ ). Berdasarkan hasil keseluruhan penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa kafein pada minuman berenergi berpengaruh nyata pada bobot ginjal, diameter glomerulus, ukuran sel epitel kapsula bowman, dan sel epitel tubulus proksimal, namun tidak berpengaruh nyata pada ukuran sel epitel tubulus distal. Perubahan struktur histologi ginjal dapat digunakan sebagai indikator tingkat kerusakan ginjal, dan dapat menjadi informasi penting bagi masyarakat tentang dampak buruk mengonsumsi minuman berenergi.

**Kata Kunci: Minuman Berenergi, Kafein & Ginjal**

**PENDAHULUAN**

Kehidupan masyarakat modern yang penuh dengan aktivitas dapat mengakibatkan sering timbulnya rasa lelah. Kelelahan tersebut dapat disebabkan sumber energi yang dimiliki oleh tubuh menurun atau habis, asam laktat meningkat, keseimbangan cairan dan elektrolit terganggu sehingga mengakibatkan rasa lelah, lesu, lemah dan penurunan konsentrasi. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengurangi atau menghilangkan rasa lelah tersebut adalah dengan mengonsumsi suplemen berenergi yang mengandung vitamin dan mineral yang dibutuhkan oleh tubuh serta mudah diserap oleh tubuh [1].

Berdasarkan hasil survei yang dilakukan di beberapa negara Amerika dan Asia menunjukkan bahwa minuman berenergi merupakan produk suplemen energi yang paling banyak dikonsumsi dibandingkan dengan produk – produk suplemen

yang lain, karena minuman berenergi dianggap memiliki efek yang lebih cepat dirasakan dibandingkan suplemen – suplemen multivitamin [2]. Suplemen berenergi dalam bentuk minuman lebih sering dikonsumsi dibandingkan dengan bentuk suplemen lain seperti tablet atau obat – obatan. Hal ini disebabkan karena kemasan *sachet* dan botol memiliki harga yang terjangkau, dan lebih mudah didapatkan di daerah tempat kerja serta praktis [3]. Kementerian Pertanian melaporkan, di Indonesia, konsumsi minuman berenergi tiap tahun kian meningkat, berdasarkan statistik konsumsi pangan menunjukkan bahwa konsumsi minuman energi per kapita per tahun sebesar 1,59 untuk kemasan 100 mL pada 2014 dan naik 62,22 persen menjadi 2,58 per 100 mL per kapita pada tahun 2017 [4].

Minuman berenergi merupakan minuman ringan yang dapat meningkatkan energi, mengurangi atau mencegah kelelahan,



meningkatkan ketahanan fisik, memperbaiki mood dan kemampuan kognitif melalui stimulasi sistem metabolik dan sistem saraf pusat. Secara umum minuman berenergi mengandung zat stimulan seperti kafein, ekstrak herbal seperti guarana dan ginseng, vitamin B kompleks, taurin dan derivat gula seperti aspartam. Minuman berenergi ini biasanya tidak menekankan energi yang berasal dari kalori yang dikandungnya, namun diformulasi untuk memberikan tambahan energi melalui kombinasi kafein, vitamin B kompleks, dan senyawa – senyawa lain [5]. Kafein merupakan suatu senyawa turunan protein berbentuk kristal yang disebut dengan purin xantin. Kafein memiliki efek yang bermanfaat secara kesehatan, seperti menstimulasi susunan saraf pusat, relaksasi otot polos dan stimulasi otot jantung. Kafein bersifat lipofilik, oleh karena itu 99% kafein diserap ke dalam darah dan selanjutnya menyebar ke seluruh tubuh dan menembus *blood brain barrier* ke otak [6]. Kafein meningkatkan hormon adrenalin dalam darah yang menyebabkan peningkatan aktivitas otot jantung dalam memompa darah dan meningkatkan tekanan darah sehingga aliran darah ke berbagai organ tubuh meningkat. Hal inilah yang mendasari perasaan segar atau hilangnya rasa lelah setelah mengonsumsi kafein [7].

Gagal ginjal kronik (GGK) atau penyakit renal tahap akhir merupakan gangguan renal yang progresif dan ireversibel dimana tubuh gagal untuk mempertahankan metabolisme dan keseimbangan cairan dan elektrolit, menyebabkan uremia (retensi urea dan sampah nitrogen lain dalam darah) [8]. Yayasan Ginjal Diatrans Indonesia menyatakan, jumlah penderita gagal ginjal terus meningkat. Data dari Perhimpunan Nefrologi Indonesia menyebutkan, saat ini sedikitnya terdapat 110.000 penderita gagal ginjal tahap akhir. Gagal ginjal di Indonesia dan negara sedang berkembang umumnya disebabkan oleh penyakit seperti diabetes, hipertensi, batu ginjal, penggunaan obat – obatan dan pemakaian suplemen, jamu – jamuan, makanan dan minuman yang bersifat nefrotoksik [9]. Hasil penelitian menunjukkan, kafein

memiliki efek berbahaya yang dapat merusak tubuh, beberapa kasus terkait minuman energi sejak tahun 2002, salah satu hasil yang paling sering dijumpai adalah gagal ginjal [10]. Hasil penelitian lainnya menunjukkan pemberian minuman berenergi dengan kandungan kafein 80 mg dapat menyebabkan peningkatan tekanan darah, denyut jantung dan efek pada ginjal. Peningkatan tersebut akan menyebabkan tekanan aferen (tekanan darah sebelum masuk glomerulus) meningkat sehingga membuat stress glomerulus yang mana bila terjadi terus menerus menyebabkan kerusakan glomerulus dan mengakibatkan kerusakan fungsi ginjal [11].

Penelitian lainnya menyebutkan bahwa pemberian minuman energi pada tikus putih menunjukkan peningkatan resiko proteinuria yang dapat membuat perubahan fungsi dan struktur pada renal ginjal [12]. Konsumsi minuman berenergi pada dosis tinggi dapat menyebabkan penurunan fungsi ginjal yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan serum kreatinin, peningkatan ekskresi albumin dan abnormalitas gambaran histopatologis dengan adanya penebalan medula ginjal, bahkan dalam dosis yang rendah sudah dapat menyebabkan peningkatan ekskresi albumin [13].

Berdasarkan uraian di atas, minuman berenergi dapat menyebabkan perubahan struktur dan fungsi fisiologis pada jaringan penyusun ginjal, maka diperlukan penelitian untuk mengetahui perubahan histologis ginjal yang diberik minuman berenergi. Hasil dari penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang dampak buruk mengonsumsi minuman berenergi terhadap kerusakan organ dan fungsi ginjal.

## LANDASAN TEORI

### Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan coba karena mempunyai respons yang cepat serta dapat memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia maupun hewan lain. Kode etik penelitian



kesehatan menyatakan bahwa salah satu prinsip dasar riset biomedis dimana manusia sebagai subjek harus memenuhi prinsip ilmiah yang telah diakui dan harus didasarkan atas eksperimen laboratorium dan hewan percobaan yang memadai serta berdasarkan pengetahuan yang lengkap dari literatur ilmiah [14].

Tikus putih jantan dewasa memiliki berat 450 – 520 g sedangkan tikus betina 250 – 300 g. Tikus jantan lebih berat dibanding tikus betina pada semua kelompok umur serta cepat mengalami perubahan pada aspek bobot organ (ginjal, hati, paru dan limpa), nilai hematologi, nilai biokimia darah meliputi alanin amino transferase (AST) dan alanin transaminase (ALT) seiring dengan bertambahnya umur tikus [15].

### **Minuman Berenergi**

Minuman berenergi merupakan salah satu jenis produk suplemen dalam bentuk minuman ringan. Umumnya produk ini mengandung zat – zat seperti kafein, karbohidrat, asam amino, vitamin, derivat gula dan bahan – bahan lain untuk meningkatkan energi, kewaspadaan, metabolisme dan meningkatkan performa baik fisik, psikologi maupun kerja kognitif [16]. Minuman berenergi mengandung sumber energi dari sukrosa (gula) atau maltodextrin, tetapi minuman berenergi tidak memformulasikan gula sebagai suplai energi utama melainkan dari kandungan kafein. Minuman berenergi mengandung dua bahan utama yang berperan sebagai suplai energi, yaitu aspartam dan kafein [17].

### **Kafein**

Kafein merupakan salah satu derivat xantin, yaitu alkaloid yang terdapat pada tumbuhan. Kafein terdapat dalam minuman berenergi dan kopi yang umumnya berasal dari biji *Coffea Arabica* dan daun teh *Thea sinensis*. Kafein berperan merangsang susunan saraf pusat, menimbulkan diuresis, merangsang otot jantung dan merelaksasi otot polos terutama bronkus. Orang yang mengonsumsi kafein merasakan tidak begitu mengantuk, tidak begitu lelah, daya pikirnya lebih cepat dan lebih jernih, tetapi kemampuannya berkurang dalam pekerjaan yang memerlukan koordinasi otot halus, ketepatan

waktu atau ketepatan berhitung. Efek tersebut timbul pada pemberian kafein 85 – 250 mg (1 – 3 cangkir). Kafein dengan dosis yang lebih tinggi dan dikonsumsi secara berlebihan dapat menyebabkan gugup, gelisah, insomnia, tremor, hiperestesia, kejang fokal [18].

### **Struktur Anatomi Ginjal**

Ginjal adalah sepasang organ yang berbentuk seperti kacang yang terletak saling bersebelahan dengan vertebra di bagian posterior inferior tubuh manusia yang normal. Setiap ginjal mempunyai berat hampir 115 g dan mengantungi unit penapisnya yang dikenali sebagai nefron. Nefron terdiri dari glomerulus dan tubulus. Glomerulus berfungsi sebagai alat penyaring, manakala tubulus adalah struktur yang mirip dengan tuba yang berikatan dengan glomerulus. Ginjal berhubungan dengan kandung kemih melalui tuba yang dikenali sebagai ureter [19].

Parenkim ren adalah jaringan terspesialisasi yang terbagi menjadi tiga bagian utama, yaitu korteks renalis, medula, dan pelvis renalis [20]. Korteks terletak dibagian luar parenkim, serta di area rentang antara kapsula ginjal dan pembuluh arkuata. Korteks berisi glomerulus dan beberapa segmen yang merupakan bagian dari tubula. Tubulus renalis di dalam korteks meliputi segmen tubula lurus yang memanjang dari persimpangan kortikomedularis. Medula terletak di bagian yang lebih dalam dari korteks dan memanjang dari pembuluh arkuata hingga ke ujung papilla [21].

Struktur ginjal pada bagian atas terdapat kelenjar adrenal yang terbenam di dalam lemak dan jaringan ikat ginjal. Batas medial ginjal yang cekung terdiri atas 3 bangunan besar, yaitu arteri renalis, vena renalis dan pelvis renalis. Struktur ini dikelilingi oleh jaringan ikat longgar dan rongga berisi lemak yang disebut sinus renalis. Setiap ginjal dilapisi oleh jaringan ikat padat tidak teratur. Irisan sagital ginjal menunjukkan korteks yang lebih gelap di bagian luar, dan medula yang lebih terang di bagian dalam, yang terdiri atas banyak piramid renalis berbentuk kerucut [22]. Ginjal disusun oleh bagian – bagian yang meliputi, korpuskulum renal, tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, tubulus



kontortus distal, dan tubulus koligentes. Korpuskulum renal bergaris tengah kira – kira 200  $\mu\text{m}$ , terdiri atas seberkas kapiler yaitu glomerulus, dan dikelilingi oleh kapsula epitel ber dinding ganda yang disebut kapsula bowman. Tubulus kontortus proksimal dilapisi oleh sel – sel selapis kuboid atau silindris. Sel – sel ini memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya mitokondria panjang dalam jumlah besar, apeks sel memiliki banyak mikrovili dengan panjang kira – kira satu  $\mu\text{m}$  yang membentuk suatu *brush border*. Lengkung henle atau ansal henle merupakan struktur yang berbentuk lengkungan yang terdiri atas ruas tebal desenden, ruas tipis desenden, ruas tipis asenden dan ruas tebal asenden. Lumen ruas nefron ini lebar karena dindingnya terdiri atas sel epitel gepeng yaitu yang intinya hanya sedikit menonjol ke dalam lumen. Tubulus kontortus distal merupakan bagian terakhir dari nefron yang dilapisi oleh sel epitel selapis kuboid. Sel – sel tubulus distal lebih gepeng dan lebih kecil dibandingkan dengan tubulus proksimal, maka tampak lebih banyak sel dan inti pada tubulus distal. Tubulus koligentes dilapisi epitel sel kuboid dan bergaris tengah lebih kurang dari 40  $\mu\text{m}$ , sewaktu tubulus masuk lebih dalam ke dalam medula, sel – selnya meninggi sampai menjadi sel silindris [23].

### Fisiologi Ginjal

Ginjal adalah organ yang mempunyai pembuluh darah yang sangat banyak, yang memiliki fungsi untuk menyaring atau membersihkan darah. Aliran darah ke ginjal adalah 1,2 liter / menit atau 1.700 liter / hari, darah tersebut disaring menjadi cairan filtrat sebanyak 120 mL / menit ke tubulus. Cairan filtrat ini diproses dalam tubulus sehingga akhirnya keluar dari kedua ginjal menjadi urin sebanyak 1 – 2 liter / hari. Fungsi lain dari ginjal adalah mempertahankan volume dan komposisi cairan ekstrasel dalam batas – batas normal. Komposisi dan volume cairan ekstrasel ini dikontrol oleh filtrasi glomerulus, reabsorpsi dan sekresi tubulus [24].

Ginjal berperan dalam proses – proses seperti filtrasi, reabsorpsi dan augmentasi.

Filtrasi merupakan pemindahan zat terlarut dan air yang terjadi melalui tekanan hidrostatis pada kapiler glomerulus. Darah masuk melewati arteriola aferen, kemudian masuk ke glomerulus difiltrasi melalui epitel glomerulus, lamina basal, dan endothelium glomerulus. Filtrat akan menghasilkan komponen sisa metabolisme seperti air dan nitrogen akan terus melewati kapiler glomerulus sedangkan komponen seperti sel dan albumin akan keluar lewat arteriola eferen. Cairan tersaring keluar kapiler ketika tekanan hidrostatis mendorong darah menjauhi dinding kapiler [20]. Reabsorpsi merupakan penyerapan kembali komponen filtrat yang dihasilkan oleh glomerulus. Filtrat masuk ke dalam tubulus kontortus proksimal, lengkung henle, tubulus kontortus distal, untuk kemudian direabsorpsi. Tubulus kontortus proksimal mereabsorpsi sekitar 70% NaCl dan air dari darah ke dalam tubula. Segmen desendens lengkung henle mereabsorpsi air sedangkan segmen asendensnya mereabsorpsi NaCl. Tubulus kontortus distal dapat melakukan reabsorpsi air dan NaCl. Reabsorpsi terjadi melalui transport aktif dan transport pasif, transport aktif menggunakan energi ATPase (seperti pompa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ) untuk membawa molekul sedangkan transport pasif menggunakan difusi dan osmosis [25]. Sekresi merupakan perpindahan substansi dari kapiler peritubular ke dalam lumen tubular ren, melalui transport aktif dan transport pasif. Proses sekresi terpenting adalah menghasilkan ion  $\text{K}^+$  dan ion – ion organik lain. Sekresi pada tubulus kontortus proksimal menghasilkan ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{K}^+$  [26].

### Histopatologis Ginjal

Ren dapat menyaring hampir 25% darah yang mengalir dalam tubuh, besarnya aliran darah ini menyebabkan ren banyak terpapar zat yang beredar melalui sistem sirkulasi tersebut. Akibatnya bahan yang bersifat toksik akan mudah menyebabkan kerusakan pada struktur dan fungsi jaringan ren. Kerusakan ren dapat bermula dari keadaan hipoksia pada medula, kemudian meningkatkan risiko terjadinya iskemia. Iskemia membuat vaskular ren mengalami hipoperfusi, sehingga proses filtrasi



darah terganggu. Kerusakan ren dapat berupa keadaan kronis maupun akut sehingga dapat pula timbul penyakit uremia. Apabila kerusakan terus berlanjut dalam jangka waktu yang lama, maka akan mengakibatkan kematian nefron [25].

Minuman berenergi dapat memberikan pengaruh terhadap terjadinya nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal ginjal tikus putih. Jumlah sel nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal akan terus meningkat seiring dengan kenaikan dosis minuman berenergi yang diberikan. Nekrosis pada sel epitel tubulus proksimal ini mengakibatkan penurunan fungsi pada ginjal. Penurunan fungsi ginjal ditunjukkan dengan menurunnya volume urin, meningkatnya kadar kreatinin urin, dan menurunnya laju filtrasi glomerulus [27].

Kerusakan sel – sel ginjal yang terjadi akibat paparan senyawa – senyawa sitotoksik, secara histologi ditunjukkan dengan adanya kerusakan sebagian sitoplasma (degenerasi) hingga masuknya cairan di luar sel masuk ke dalam sitoplasma sehingga terjadi penumpukan air di dalam sitoplasma, sementara sel yang mengalami inflamasi ditandai dengan adanya pembesaran atau penebalan struktur pada dinding sel. Sel – sel yang mengalami kerusakan parah akan mengalami kematian atau nekrosis sel yang ditandai dengan hilangnya inti sel (lisis) dan sitoplasma [28].

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di kandang peternakan tikus penelitian Starbio di Kecamatan Kasihan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta selama 4 bulan, dari bulan Juni sampai bulan September 2020. Perlakuan hewan uji dilakukan selama 1 bulan. Pembuatan preparat histologi dilakukan selama 10 hari di Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Pengamatan preparat histologi dan pengambilan data dilakukan selama 1 bulan. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dan terdaftar pada komisi etik penelitian dari Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro dengan surat etik No.107/EC/H/FK-UNDIP/XI/2020.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, wadah pakan dan minum, gelas ukur, 20 set kandang, sprayer, jarum gavage, satu set alat bedah, spuit, pipet tetes, bak parafin, pinset, tissue processor, embedding station, tissue cassetts, waterbath, slide warmer, mikrotom, kuas, gelas benda dan penutup gelas benda, bunsen, nampan, cawan petri, mikroskop cahaya dan fotomikrograf. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih jantan dengan berat 200 g, sekam padi, pakan standar, minuman berenergi merek x, deterjen cair, air minum, kloroform, larutan buffered neutral formalin (BNF) 10%, larutan garam fisiologis, alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 96% dan absolut), toluol, aquades, parafin, larutan hematoxylin dan eosin, xylol, Canada balsam, label dan entelan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan.. Perlakuan meliputi P0 (Kontrol), P1 (pemberian minuman energi 76 mg/200 g BB/hari), P2 (pemberian minuman energi 152 mg/200 g BB/hari), P3 (pemberian minuman energi 228 mg/200 g BB/hari), dan P4 (pemberian minuman energi 304 mg/200 g BB/hari).

## Perhitungan Dosis Minuman Berenergi

Dosis konsumsi minuman berenergi ditentukan berdasarkan kebiasaan konsumsi minuman berenergi orang dewasa di Indonesia. Orang dewasa di Indonesia rata – rata memiliki kebiasaan mengonsumsi minuman berenergi satu hingga tiga kali sehari, namun dalam penelitian ini disertakan konsumsi hingga 4 kali sehari untuk mengkaji dampak kerusakan ginjal jika dikonsumsi melebihi pemakaian pada umumnya. Kemasan *sachet* minuman berenergi yang digunakan memiliki berat bersih sebesar 4200 mg, dengan kandungan bahan antara lain, taurin 500 mg, ekstrak gingseng 35 mg, vitamin B2 3 mg, vitamin B3 16 mg, vitamin B5 5 mg, vitamin B6 1,5 mg, vitamin B8 10 mg, vitamin B9 100 mcg, vitamin B9 mcg, vitamin B12 1 mcg, royal jell 2 mg, dan kafein 50 mg. Konversi dosis minuman berenergi manusia ke tikus dilakukan dengan menggunakan Tabel konversi Laurence



dan Bacharach [30], dimana bobot badan manusia dewasa sebesar 70 kg setara dengan tikus putih dengan bobot badan 200 g, dan nilai konversinya sebesar 0,018. Nilai konversi kemudian dikalikan dengan total berat bersih *sachet* minuman berenergi dan banyaknya jumlah konsumsi minuman berenergi, sehingga diperoleh dosis satu hingga empat kali konsumsi secara berurutan adalah 76 mg, 152 mg, 228 mg, dan 304 mg/200 g BB/hari.

### **Persiapan Hewan Uji**

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih jantan dengan bobot badan 200 g, yang diperoleh dari peternakan penelitian Starbio di Kecamatan Kasihan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta. Tikus putih tersebut diaklimatisasi selama 7 hari, dilanjutkan pemeliharaan perlakuan selama 30 hari. Tikus putih dipelihara pada suhu kamar, diberi pakan dan minum secara *ad libitum*.

### **Pembuatan Larutan Stok Minuman Berenergi**

Pembuatan larutan minuman berenergi dilakukan dengan membuat larutan stok. Pembuatan larutan stok untuk dosis 76 mg dilakukan dengan cara menambahkan 2.660 mg bubuk minuman berenergi ke dalam 70 mL air. Pembuatan larutan stok untuk dosis 152 mg, 228 mg, dan 304 mg dilakukan secara analog dengan pembuatan larutan stok untuk dosis 76 mg. Larutan stok minuman berenergi disimpan dalam kulkas pada temperatur 4°C, disesuaikan dengan temperatur ruang ketika akan digunakan.

### **Pemberian Perlakuan**

Pemberian larutan minuman berenergi dilakukan secara oral menggunakan jarum *gavage* dengan dosis sebanyak 2 mL setiap perlakuan. Pemberian perlakuan tersebut dilakukan selama 30 hari pada sore hari pukul 17.00–18.00 WIB.

### **Isolasi Organ dan Pembuatan Preparat**

Pengakhiran tikus dilakukan setelah 30 hari perlakuan, tikus dibius dengan kloroform sebanyak 0,67 mL/tikus, kemudian pembedahan dilakukan dari arah caudal ke arah ventral, dan organ ginjal diisolasi. Ginjal tersebut dicuci dengan larutan garam fisiologis dan disimpan dalam flakon plastik yang berisi larutan fiksatif

*Buffered Neutral Formaline* (BNF) 10%. Sampel ginjal tersebut selanjutnya digunakan untuk membuat sediaan preparat histologis dengan metode parafin dan pewarnaan hematoksin – eosin, yang dilakukan di Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman.

### **Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yang diukur meliputi bobot ginjal, dan pengukuran sel – sel penyusun ginjal, meliputi diameter glomerulus, ukuran sel epitel kapsula bowman, ukuran sel epitel tubulus distal dan ukuran sel epitel tubulus proksimal. Pengambilan data bobot ginjal dilakukan setelah pembedahan, dan pengukuran sel – sel dilakukan dengan software yang terhubung dengan mikroskop fotomikrograf Olympus BH-2.

### **Analisis Data**

Data dianalisis dengan uji pola distribusi dan homogenitas. Hasil dengan distribusi normal dan homogen dilanjutkan analisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjut *Duncan Multi Range Test* (DMRT) ( $P < 0,05$ ). Analisis hasil dengan program SPSS versi 25 untuk mengetahui pengaruh perlakuan pada sampel percobaan.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil analisis terhadap variabel histopatologi ginjal tikus putih menunjukkan bahwa pemberian minuman berenergi memberi pengaruh nyata terhadap bobot ginjal, diameter glomerulus, ukuran sel epitel kapsula bowman dan ukuran sel epitel tubulus proksimal, tetapi tidak memberi pengaruh nyata terhadap ukuran sel epitel tubulus distal. Hasil Anova dan rata-rata hasil pengukuran variabel disajikan pada Tabel 1.



**Tabel 1. Hasil analisis Anova terhadap bobot ginjal, diameter glomerulus, ukuran sel epitel kapsula bowman, ukuran sel epitel tubulus proksimal dan ukuran sel epitel tubulus distal.**

Variabel	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Bobot ginjal (g)	3,25 <sup>a</sup> ±0,19	3,58 <sup>a</sup> ±0,96	3,53 <sup>a</sup> ±0,13	3,53 <sup>a</sup> ±0,38	4,48 <sup>b</sup> ±0,21
Diameter glomerulus (µm)	90,87 <sup>b</sup> ±6,63	80,87 <sup>ab</sup> ±12,3	74,56 <sup>a</sup> ±10,05	76,63 <sup>a</sup> ±6,14	68,73 <sup>a</sup> ±5,63
Ukuran sel epitel k. bowman (µm)	8,30 <sup>b</sup> ±1,00	6,85 <sup>a</sup> ±0,57	6,78 <sup>a</sup> ±0,48	6,82 <sup>a</sup> ±0,46	6,18 <sup>a</sup> ±0,64
Ukuran sel epitel tubulus proksimal (µm)	8,77 <sup>b</sup> ±0,57	8,85 <sup>b</sup> ±0,93	8,35 <sup>b</sup> ±0,48	7,93 <sup>ab</sup> ±0,60	6,92 <sup>a</sup> ±0,68
Ukuran sel epitel tubulus distal (µm)	7,85 <sup>b</sup> ±0,67	7,22 <sup>ab</sup> ±0,65	6,48 <sup>a</sup> ±0,59	6,64 <sup>ab</sup> ±0,45	6,05 <sup>a</sup> ±1,37

Keterangan: superskrip sama pada baris yang sama, menunjukkan perbedaan tidak nyata ( $P > 0,05$ ). P0 (Kontrol atau tidak diberikan minuman berenergi). P1, P2, P3 dan P4 secara berturut – turut adalah tikus putih yang diberikan minuman berenergi 76 mg/ 200 g/ BB/ hari, 152 mg/ 200g/ BB/ hari, 229 mg/ 200 g/ BB/ hari, dan 304 mg/ 200 g/ BB/ hari. Data yang ditampilkan rata-rata ± SD

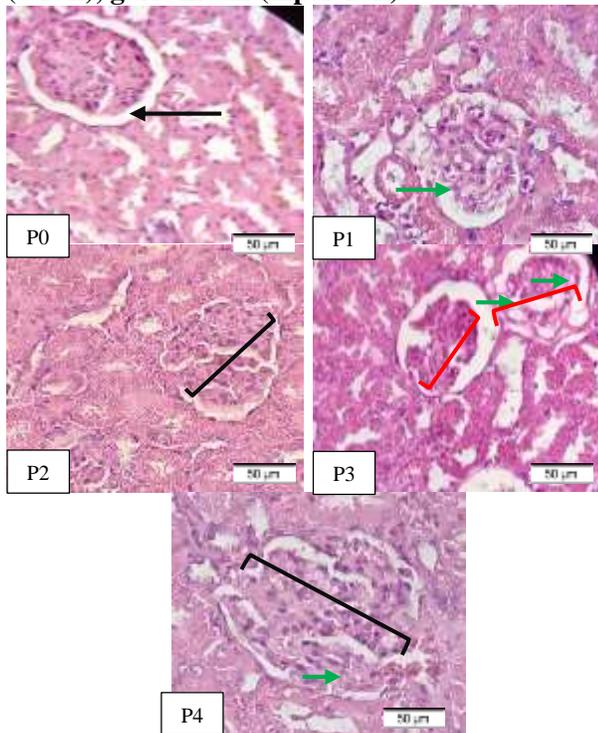
Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa minuman berenergi memberi pengaruh nyata terhadap bobot ginjal ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis lanjut dengan uji Duncan pada signifikansi 5% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara P0 dengan P4, tetapi P0 tidak berbeda nyata dengan P1, P2, dan P3. Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa minuman berenergi dapat meningkatkan bobot ginjal. Rata – rata bobot ginjal tertinggi terdapat pada perlakuan P4, lebih tinggi dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa bobot ginjal normal tikus putih dewasa berkisar antara 1,8 – 3,2 g [29]. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa bobot ginjal tikus putih pada P1, P2, P3 dan P4 tidak normal. Hasil ini diduga terjadi

karena ginjal mengalami retensi cairan. Kondisi tersebut dapat diakibatkan oleh konsumsi minuman dengan kandungan kafein dosis tinggi. Kafein merupakan bahan diuretik alami, dimana mampu mengeluarkan cairan di dalam tubuh, akan tetapi konsumsi kafein secara berlebihan justru dapat menyebabkan retensi cairan pada jaringan. Hal ini terjadi karena kafein akan memaksa tubuh untuk mengeluarkan cairan secara berlebihan, sehingga menyebabkan sistem tubuh akan menahan cairan sebagai upaya tubuh agar tidak dehidrasi. Kondisi tersebut yang berlangsung dalam jangka waktu lama, akan menyebabkan terjadinya edema [30].

Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa minuman berenergi memberi pengaruh nyata terhadap diameter glomerulus ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis lanjut dengan uji Duncan pada signifikansi 5% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara P0 dengan P2, P3 dan P4, tetapi P0 tidak berbeda nyata dengan P1. Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa minuman berenergi dapat menurunkan diameter glomerulus. Rata – rata diameter glomerulus terkecil terdapat pada perlakuan P4, lebih kecil dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa rata – rata diameter glomerulus normal tikus putih dewasa berkisar 77 – 151 µm [31]. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa diameter glomerulus tikus putih pada P2, P3 dan P4 tidak normal. Hasil ini diduga terjadi karena sel – sel penyusun glomerulus mengalami penyusutan sel (atrofi) akibat efek nefrotoksik dari minuman berenergi. Atrofi sel – sel penyusun glomerulus terjadi sebagai respons terhadap senyawa sitotoksik, untuk membantu memenuhi kebutuhan jaringan yang telah rusak agar dapat mempertahankan keutuhan organ [32]. Konsumsi senyawa kafein yang bersifat sitotoksik menyebabkan penyempitan glomerulus dan pelebaran ruang bowman [33].



**Gambar 1. Glomerulus tikus putih setelah pemberian minuman berenergi. (Pewarnaan Hematoksilin – Eosin, perbesaran 400x). Keterangan: panah hitam (glomerulus normal), panah hijau (degenerasi lemak), garis merah (atrofi), garis hitam (hipertrofi).**



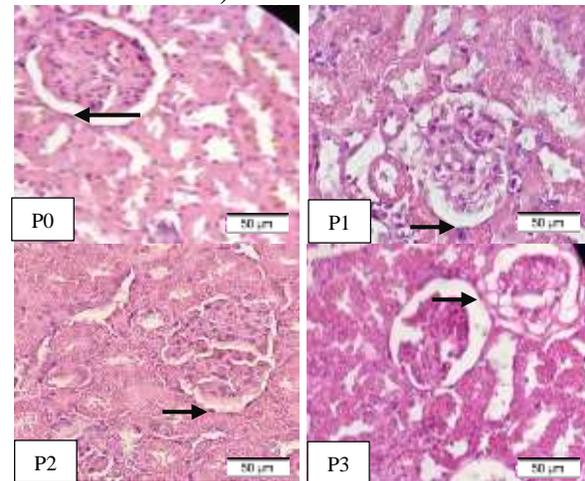
Hasil pengamatan mikroskopis pada glomerulus (Gambar 1) ditemukan adanya sel – sel penyusun glomerulus mengalami atrofi, hipertrofi dan degenerasi lemak. Jaringan yang mengalami kerusakan, akan selalu diikuti dengan mekanisme seluler yang mengarah terjadinya hipertrofi dan atrofi. Kedua kondisi tersebut merupakan bentuk respons terhadap senyawa sitotoksik dalam upaya mempertahankan kondisi homeostasis [25]. Degenerasi lemak yang muncul merupakan akibat dari akumulasi lemak abnormal di dalam vakuola sitoplasma sel – sel penyusun glomerulus, yang terjadi akibat paparan senyawa sitotoksik [34].

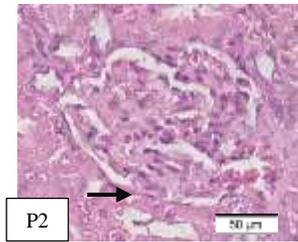
Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa minuman berenergi memberi pengaruh nyata terhadap ukuran sel epitel kapsula bowman ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis lanjut dengan uji Duncan pada signifikansi 5% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara P0 dengan P1, P2, P3 dan P4. Berdasarkan

hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa minuman berenergi dapat menurunkan ukuran sel epitel kapsula bowman. Rata – rata ukuran sel epitel kapsula bowman terkecil terdapat pada perlakuan P4, lebih kecil dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata – rata ukuran sel epitel kapsula bowman normal tikus putih berkisar 8 – 9 µm [35]. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ukuran sel epitel kapsula bowman tikus putih pada P1, P2, P3 dan P4 tidak normal. Hasil ini diduga terjadi karena sel epitel kapsula bowman mengalami penyusutan ukuran sel akibat paparan senyawa nefrotoksik dari minuman berenergi [36]. Sel epitel kapsula bowman rentan mengalami perubahan bentuk sel baik penyusutan sel maupun pembesaran sel akibat kondisi stres atau cedera pada glomerulus karena efek senyawa nefrotoksik [37]

Hasil pengamatan mikroskopis pada glomerulus (Gambar 2) tidak ditemukan adanya perubahan morfologi dari sel epitel kapsula bowman, hal ini menunjukkan bahwa pemberian minuman berenergi pada semua dosis belum mempengaruhi terjadinya perubahan histologi dan aktivasi sel epitel kapsula bowman. Morfologi sel epitel kapsula bowman masih utuh dan berbentuk epitel skuamosum [38].

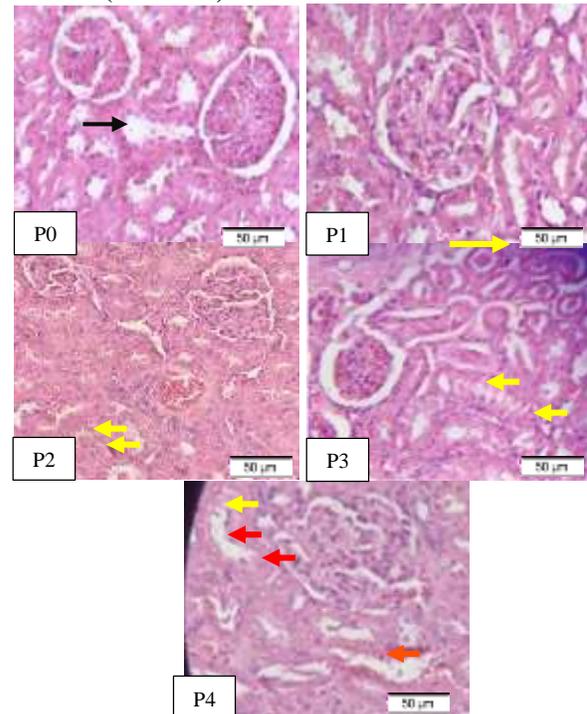
**Gambar 2. Sel epitel kapsula bowman setelah pemberian minuman berenergi. (Pewarnaan Hematoksilin – Eosin, perbesaran 400x). Keterangan: panah hitam (sel epitel kapsula bowman normal).**





Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa minuman berenergi memberi pengaruh nyata terhadap ukuran sel epitel tubulus proksimal ( $P < 0,05$ ). Hasil analisis lanjut dengan uji Duncan pada signifikansi 5% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antara P0 dengan P4, tetapi P0 tidak berbeda nyata dengan P1, P2, dan P3. Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa minuman berenergi dapat menurunkan ukuran sel epitel tubulus proksimal. Rata – rata ukuran sel epitel tubulus proksimal terkecil terdapat pada perlakuan P4, lebih kecil dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata – rata ukuran sel epitel tubulus proksimal normal tikus putih berkisar 8 – 10  $\mu\text{m}$  [39]. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ukuran sel epitel tubulus proksimal tikus putih pada P3 dan P4 tidak normal. Hasil ini diduga terjadi karena tingginya dosis minuman berenergi yang mengandung senyawa nefrotoksik seperti kafein dapat membuat sel epitel menyusut. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberikan minuman berenergi dosis tinggi, menunjukkan adanya superoxide dismutase (SOD) yang tinggi dalam darah. Tingginya kadar SOD dalam darah berkaitan dengan kerusakan ginjal akibat stres oksidatif. Stres oksidatif yang terjadi secara berlebihan akan mengakibatkan penghambatan mekanisme pertahanan ginjal dan meningkatkan peroksidasi lipid yang akan mengakibatkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal inilah yang mengakibatkan penurunan ukuran sel epitel tubulus proksimal [36].

**Gambar 3.** Sel epitel tubulus proksimal setelah pemberian minuman berenergi. (Pewarnaan Hematoksilin – Eosin, perbesaran 400x). Keterangan: panah hitam (sel epitel tubulus proksimal normal), panah kuning (degenerasi hidropik), panah oranye (pendarahan), panah merah (nekrosis).



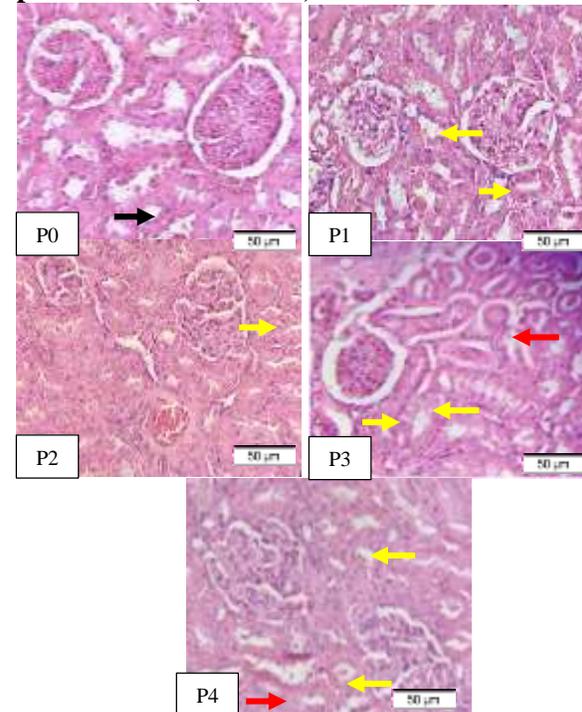
Hasil pengamatan mikroskopis pada tubulus proksimal (Gambar 3) ditemukan adanya sel epitel tubulus proksimal yang mengalami degenerasi hidropik, pendarahan dan nekrosis sel. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa tikus putih yang diberikan minuman berenergi pada dosis 72 mg/200 g BB/hari, ditemukan adanya sel – sel epitel tubulus proksimal yang mengalami kerusakan sel hidropik dan nekrosis [10]. Degenerasi hidropik ditandai dengan adanya sel epitel yang membengkak, serta ruang – ruang sel yang kosong pada sitoplasma [34], sementara nekrosis terjadi akibat sel – sel epitel mengalami kondisi iskemia [40]. Lebih lanjut kerusakan sel epitel tubulus proksimal yang ditandai dengan adanya kongesti terjadi karena adanya pembendungan darah akibat gangguan sirkulasi yang terjadi akibat paparan senyawa kafein [41].

Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa minuman berenergi tidak



memberi pengaruh nyata terhadap ukuran sel epitel tubulus distal ( $P > 0,05$ ). Hal ini berarti secara statistika minuman berenergi yang diberikan pada hewan uji tidak memberi pengaruh nyata terhadap perubahan ukuran sel epitel tubulus distal. Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 1 menunjukkan bahwa minuman berenergi dapat menurunkan ukuran sel epitel tubulus distal. Rata – rata ukuran sel epitel tubulus distal terkecil terdapat pada perlakuan P4, lebih kecil dibanding kontrol dan perlakuan lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata – rata ukuran sel epitel tubulus distal normal tikus putih berkisar  $6,4 - 7 \mu\text{m}$  [42]. Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ukuran sel epitel tubulus distal tikus putih pada P4 tidak normal. Hasil ini diduga terjadi karena paparan senyawa kafein yang bersifat toksik menyebabkan penurunan sel epitel tubulus distal [28]. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa penurunan ukuran sel epitel tubulus distal terjadi dan berpotensi mengalami atrofi akibat respons fisiologis terhadap stres oksidatif yang ditimbulkan oleh senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang mana terjadi karena paparan senyawa kafein dalam minuman energi [43]. Lebih lanjut dalam penelitian lain juga membuktikan bahwa tubulus distal yang berperan dalam proses augmentasi rentan mengalami kerusakan akibat zat – zat nefrotoksik seperti kafein [44].

**Gambar 4. Sel epitel tubulus distal setelah pemberian minuman berenergi. (Pewarnaan Hematoksilin – Eosin, perbesaran 400x). Keterangan: panah hitam (sel epitel tubulus distal normal), panah kuning (degenerasi hidropik), panah merah (nekrosis).**



Hasil pengamatan mikroskopis pada tubulus distal (Gambar 4) ditemukan adanya sel epitel tubulus distal yang mengalami degenerasi hidropik, dan nekrosis sel. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa tikus putih yang diberikan minuman berenergi dosis tinggi akan menyebabkan tubulus proksimal dan distal mengalami gangguan seperti degenerasi hidropik [45]. Lebih lanjut penelitian lain juga membuktikan bahwa banyaknya perubahan degenerasi pada jaringan – jaringan ginjal dapat membuat sel – sel tubulus ginjal mengalami kematian sel (nekrosis) [46].

## PENUTUP

### Kesimpulan

Pemberian minuman berenergi dapat menyebabkan kerusakan struktur dan penurunan fungsi ginjal pada tikus putih yang ditandai dengan peningkatan bobot ginjal, penurunan diameter glomerulus, penurunan ukuran sel epitel kapsula bowman, penurunan ukuran sel epitel



tubulus distal dan penurunan ukuran sel epitel tubulus proksimal.

#### Saran

Data hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi penting bagi pengembangan penelitian histopatologi, yaitu durasi waktu sel – sel penyusun ginjal dari kondisi hipertrofi ke atrofi, pengembangan penelitian patofisiologi ginjal dengan menggunakan beberapa variabel, antara lain kadar kreatinin darah, kadar urea, kadar protein, kadar glukosa dan natrium dalam urin.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Giriwijoyo, H. S., 2012, *Ilmu Faal (Fisiologi Olahraga) : Fungsi Tubuh Manusia pada Olahraga Untuk Kesehatan dan Prestasi*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- [2] Alsunni, A. A., 2016, Energy Drink Consumption: Beneficial and Adverse Health Effects. *International Journal of Health Sciences* 9 (4) : 468 – 474.
- [3] Putriastuti, R., L. Kustiyah, dan F. Anwar., 2007, Persepsi, Konsumsi Dan Preferensi Minuman Berenergi. *Jurnal Gizi Dan Pangan* 2 (3) : 13 – 25.
- [4] Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2017, *Statistik Ketahanan Pangan*. Jakarta.
- [5] Malinauskas, B. M., 2007, A Survey of Energy Drink Consumption Patterns Among College Students, *Nutritional Journal* 6 (35) : 289.
- [6] Arwangga, A. A., 2016, Analisis Kandungan Kafein Pada Kopi di Desa Sesaot, *Jurnal Kimia* 110 - 114.
- [7] Nurdiana dan N. E. Samosir., 2013, Pengaruh Kafein Terhadap Kualitas Tidur Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. *Jurnal FK – USU* 1 (1) : 3 – 10.
- [8] Brunner dan Suddarth., 2007, *Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta : EGC.
- [9] Yayasan Ginjal Diatrans Indonesia, 2010, *Buletin Dialife*, Edisi : Januari Halaman 10 – 11.
- [10] Prasetyaning, U., D. Andari, dan S. M. Agustini., 2013, Pengaruh Pemberian Minuman Berenergi Subakut Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Tikus Putih Strain Wistar, *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga* 9 (1) : 223 – 230.
- [11] Nowak, D., M. Goslinski, and K. Nowatkowska, 2018, The Effect of Acute Consumption of Energy Drinks on Blood Pressure, Heart Rate and Blood Glucose in the Group of Young Adults, *Journal of Environmental Research and Public Health* 15 (3) : 544 - 560.
- [12] Mansy, W., D. M. Alogaiel, M. Hanafi, and E. Zakaria, 2017, Effects of Chronic Consumption of Energy Drinks on Liver and Kidney of Experimental Rats, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 16 (12) : 2849 – 2856.
- [13] Suharjono, Z. Izzah, M. Rindang, A. Setya, dan M. Rahmadi, 2015, Efek Kronis Minuman Berenergi Pada Ginjal, *Jurnal Farmasi Indonesia* 7 (4) : 252 – 257.
- [14] Wolfensohn, S. and Lloyd, M., 2013, *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 4th ed. Wiley-Blackwell, West Sussex, 234.
- [15] Marice, S. dan T. Sulistyowati, 2011, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda. *Jurnal Veteriner* 12 (1) : 60.
- [16] Sabban, I., 2016, *Panduan Lengkap Tikus Putih*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- [17] Kreider, R.B., 2018, Current Perspectives of Caffeinated Energy Drinks on Exercise Performance and Safety Assessment. *Journal of Nutrition and Dietary Supplements* 10 : 38.
- [18] Sepkowitz, K.A. 2013. Energy Drinks and Caffeine – Related Adverse Effects. *Journal American Medical Association* 309 (3) : 243 – 254.
- [19] Pranay, K. and M.C. Stoppler. 2010. *Chronic Kidney Disease Symptoms, Causes, Stages, Diet, and Treatment*. Medical Health : UK.
- [20] Scanlon, V, 2011, *Essentials of Anatomy and Physiology 6th Edition*. St. Louis : W.B. Saunders.



- [21] Mescher, A. L., 2016, *Basic Histology : Text and Atlas 15th Edition*. McGraw – Hill : New York.
- [22] Eroschenko, V. P., 2010, *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional Edisi 11*. Jakarta : EGC.
- [23] Junquiera, L. C. dan J. Carneiro, R.O. Kelley., 2007, *Histologi Dasar. Ed Ke – 8. Tambayang J*, Penerjemah. Jakarta : EGC. Terjemahan dari : Basic Histology.
- [24] Guyton, A. C. dan J. E. Hall, 2012, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 11*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- [25] Hammer, S.J. and S.J. McPhee., 2014, *Pathophysiology of Disease : An Introduction to Clinical Medicine*. New York : McGraw – Hill.
- [26] Wang, K. and B. Kestenbaum, 2018, Proximal Tubular Secretary Clearance : A Neglected Partner of Kidney Function. *Clinical Journal of American Society of Nephrology* 13(8) : 1291 – 1296.
- [27] Kelsey, D., A. J. Berry, R. A. Swain, and S. Lorenz. Case Report : A Case of Psychosis and Renal Failure Associated with Excessive Energy Drink Consumption. *Journal of Case Report in Psychiatry* 2019.
- [28] Fahrimal, Y., Rahmiwati dan D. Aliza. 2016. Gambaran Histopatologis Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan yang Diinfeksi Trypanosoma evansi dan Diberi Ekstrak Daun Sernai (*Wedelia biflora*). *Jurnal Medika Veterinaria* Vol 10 (2) : 166 – 170.
- [29] Apriandi, A., K. Tarman dan P. Sugita. 2016. Toksisitas Subkronis Ekstrak Air Kerang Lamis Secara In Vivo Pada Tikus Sprague Dawley. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19 (2) : 177 – 183.
- [30] Smith, L. B. 2018. *Does Drinking Soda Cause Water Retention ?*. <https://healthyeating.sfgate.com/drinking-soda-cause-water-retention-11967.html>. Diakses pada 2 November 2020.
- [31] Kotyk, T., N. Dey, A. S. Ashour, D. Balas – Timar, S. Chakraborty, A. S. Ashour, and J. M. R. S. Tavares. 2015. Measurement of the Glomerulus Diameter and Bowman's Space Width of Renal Albino Rats. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*.
- [32] Helal, A. A., 2011, Perbandingan dua ekstraksi yang berbeda pada daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap rendemen ekstrak dan senyawa bioaktif yang dihasilkan. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, No. 1, Vol. 1, pp. 45-51.
- [33] Othman, S. I., and M. B. Jumah. 2019. Histopathological Effect of Aspartame on Liver and Kidney of Mice. *International Journal of Pharmacology* Vol 15 (3): 336 – 342..
- [34] Suhita, L. P. R., I. W. Sudira, dan I. B. O. Winaya. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana* Vol 5 (2) : 71 – 78.
- [35] Naito, S., J. W. Pippin, and S. J. Shankland. 2014. The Glomerular Parietal Epithelial Cell's Responses are Influenced by SM22 Alpha Levels. *Journal of BMC Nephrology* 15 : 174.
- [36] Memudu, A. E., O. Egun, I. R. Osahon, and A. Ovioun. 2020. Caffeinated Energy Drink Induces Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Mild Distortion of Cells in the Renal Cortex of Adult Wistar Rats. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research* (6) : 817 – 824.
- [37] Fatima, H., M. J. Moeller, B. Smeets, H.C. Yang, V. D. D'Agati, C. E. Alpers, and A. B. Fogo. 2012. Parietal Epithelial Cell Activation Marker in Early Recurrence of FSGS in the Transplant. *Clinical Journal of The American Society of Nephrology* 7 : 1852 – 1858.
- [38] Falkson, S. R. and B. Bordoni, 2020, *Anatomy, Abdomen and Pelvis, Bowman Capsule*. StatPearls Publishing LLC.
- [39] El – Kordy, E. A. 2019. Effect of Suramin on Renal Proximal Tubular Cells Damage Induced by Cisplatin in Rats (Histological and Immunohistochemical Study). *Journal of Microscopy and Ultrastructure* 7 (4) : 153 – 164.



- 
- [40] Szabo, C., 2005, Mechanisms of Cell Necrosis, *Journal of Crit Care Med* 33 (12) : 530 – 534.
- [41] Ratnawati, A., U. Purwaningsih dan Kurniasih., 2013, Histopatologis Dugaan Edwardsiella Tarda Sebagai Penyebab Kematian Ikan Maskoki (*Crassius auratus*) : Postulat Koch, *Jurnal sains Veteriner* Vol 31 (1) : 55 – 65.
- [42] Letts, R. F. R., X. Y. Zhai, C. Bhikha, B. L. Grann, N. B. Blom, J. S. Thomsen, D. M. Rubin, E. I. Christensen, and A. Andreasen., 2017, Nephron Morphometry in Mice and Rats Using Tomographic Microscopy, *American Journal of Physiology* 312 : 210 – 229.
- [43] Ozbek, E., 2012, Induction of Oxidative Stress in Kidney, *International Journal of Nephrology* 1 – 9.
- [44] Jarvis, C., 2011, *Physical Examination and Health Assessment* (6th ed). St. Louis : W.B. Saunders.
- [45] Doyle, W., E. Shide, and V. Chandrasekaran., 2012, The Effects of Energy Beverages on Cultured Cells. *Journal of Food and Chemical Toxicology* Vol 50 (10) : 3759 – 3768.
- [46] Shimizu, T., Kuroda, T., Ikeda, M., Hata, S., and Fujimoto, M., 1998, Potential contribution of endothelin to renal abnormalities in glycerol-induced acute renal failure in rats, *Journal Pharmacology* 286 : 977 – 983.



HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN