

ANALISIS EKSTRAK BUAH KIWI (*ACTINIDIA DELICIOSA*) PADA KADAR UREUM DAN KREATININ SERUM TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI PARASETAMOL

Rizky Amalia¹, Amallia N. Setyawati², Dwi Ngestiningsih²

¹Mahasiswa Program Studi S-1 Ilmu Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
JL. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang: Buah kiwi merupakan buah yang kaya akan antioksidan dan memiliki banyak khasiat untuk tubuh. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas yang dapat merusak sel. Parasetamol dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal jika digunakan dengan dosis berlebih. Aktivitas antioksidan dari buah kiwi dapat mengurangi kerusakan ginjal akibat toksisitas parasetamol.

Tujuan: Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) terhadap kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar jantan yang diinduksi parasetamol.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *the post test-only control group design*. Penelitian ini menggunakan lima kelompok, 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif mendapat pakan standar, kelompok kontrol positif mendapat pakan standar serta diinduksi parasetamol dan kelompok perlakuan mendapat pakan standar, ekstrak buah kiwi dosis berbeda untuk setiap kelompok perlakuan serta diinduksi parasetamol.

Hasil: Rerata kadar ureum pada kelompok kontrol negatif adalah $37,65 \pm 2,68$ mg/dl sedangkan rerata kelompok kontrol positif adalah $35,03 \pm 8,86$ mg/dl. Rerata kadar kreatinin pada kelompok kontrol negatif adalah $0,40 \pm 0,06$ mg/dl sedangkan rerata kelompok kontrol positif adalah $0,45 \pm 0,05$ mg/dl. Ekstrak buah kiwi dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin tikus. Tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar ureum antar kelompok ($p=0,187$). Tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar kreatinin antar kelompok ($p=0,091$).

Kesimpulan: Parasetamol tidak terbukti meningkatkan kadar ureum pada penelitian ini, namun parasetamol terbukti meningkatkan kadar kreatinin. Pemberian ekstrak buah kiwi tidak menurunkan kadar ureum dan kreatinin tikus secara signifikan.

Kata kunci: kiwi, parasetamol, ureum, kreatinin

ABSTRACT

ANALYSIS OF KIWI (*ACTINIDIA DELICIOSA*) EXTRACT ON THE UREUM AND CREATININE SERUM LEVEL OF WISTAR RATS WHICH WERE INDUCED BY PARACETAMOL

Background: Kiwi is a fruit with high content of antioxidants and has many benefits for the body. Antioxidants are known to neutralize free radicals which may harm the cells. Paracetamol may damage the kidneys if it is used in an excessive dose. The antioxidant activity of kiwi may reduce kidney damage due to the toxicity of paracetamol.

Aim: This research was aimed to identify the influence of kiwi (*Actinidia deliciosa*) on ureum and creatinine serum of male wistar rats which were induced by paracetamol.

Method: This research was a laboratory experimental approach with the post test-only control group design. This study used five groups 1 negative control, 1 positive control group and 3 treatment groups. Each group consisted of 7 rats. Negative control group received standard feeding, the positive control group received standard feeding and induced by paracetamol and the treatment group received standard feeding, kiwi extract in different doses for each treatment group and induced by paracetamol.

Results: The average of ureum level on negative control group was $37,65 \pm 2,68$ mg/dl while the average on positive control group was $35,03 \pm 8,86$ mg/dl. The average of creatinine level on negative control group was $0,40 \pm 0,06$ mg/dl while the average on positive control group was $0,45 \pm 0,05$ mg/dl. Kiwi extract reduced levels of ureum and creatinine of the rats. There was no significant difference at ureum level ($p=0,187$) and at creatinine levels ($p=0,091$).

Conclusions: Paracetamol was concluded not to increase ureum levels in this study, however paracetamol was shown to increase levels of creatinine. Kiwi did not reduce levels of ureum and creatinine of the rats significantly.

Keywords: Kiwi, paracetamol, ureum, creatinine

PENDAHULUAN

Perhatian dunia kedokteran terhadap oksidan semakin meningkat, hal ini disebabkan oleh karena timbulnya kesadaran bahwa oksidan dapat menimbulkan kerusakan sel, dan menjadi penyebab dari berbagai keadaan patologik. Oksidan dapat mengganggu integritas sel karena bereaksi dengan komponen penting sel yang berguna untuk mempertahankan sel. Oksidan yang dapat merusak sel berasal dari berbagai sumber, antara lain dari tubuh sendiri, proses peradangan, luar tubuh dan berasal dari akibat radiasi. Oksidan dari luar tubuh dapat berupa obat-obatan dan senyawa pencemar (polutan). Untuk meredam dampak negatif dari oksidan, diperlukan senyawa-senyawa antioksidan.¹

Salah satu obat yang sering menyebabkan stress oksidatif adalah parasetamol. Parasetamol atau bisa juga disebut asetaminofen merupakan obat yang dapat dibeli tanpa resep dokter dan digunakan secara luas di berbagai negara.² Penggunaan parasetamol yang luas dan bebas di masyarakat menyebabkan penyalahgunaan di masyarakat, salah satunya adalah penggunaan dengan dosis obat yang tidak rasional. Parasetamol yang digunakan dengan dosis yang berlebihan dapat menyebabkan efek nefrotoksisitas pada ginjal. Pemberian parasetamol sebesar 15 gram dapat berakibat fatal seperti kematian disebabkan oleh hepatotoksisitas berat. Kasus kerusakan ginjal tanpa kerusakan hati telah terjadi, bahkan setelah penggunaan dengan dosis biasa.³

Toksisitas parasetamol terjadi akibat konversi obat tersebut menjadi metabolit reaktif, yaitu N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) oleh enzim sitokrom P450.⁴ Peningkatan kadar NAPQI menyebabkan aliran darah membawa zat tersebut menuju ginjal, oleh karena itu

NAPQI menyebabkan kematian tubular yang ditandai meningkatnya kadar BUN dan kreatinin yang akhirnya dapat menimbulkan kegagalan ginjal.⁵

Dampak negatif akibat toksisitas parasetamol dapat dikurangi dengan antioksidan.¹ Buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) atau bisa disebut juga *Chinese gooseberry* memiliki banyak khasiat untuk kesehatan tubuh. Buah kiwi organik yang matang mengandung aktivitas polifenol dan antioksidan yang tinggi. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas yang dapat merusak sel. Kiwi organik juga mengandung kadar vitamin C dan E yang tinggi yang dapat berperan sebagai antioksidan. Satu buah kiwi sudah cukup untuk memenuhi kebutuhan vitamin C orang dewasa dalam satu hari. Kandungan vitamin C pada buah kiwi mencapai 17 kali lebih banyak dibanding buah apel dan dua kali lebih banyak dari buah jeruk dan lemon.⁶ Kandungan vitamin E pada buah kiwi juga dua kali lebih banyak dibanding buah alpukat.⁷ Buah kiwi juga mengandung sejumlah *phytonutrient* meliputi karotenoid, lutein, fenolic, flavonoid dan klorofil.⁸ Kapasitas antioksidan buah kiwi terhadap senyawa-senyawa radikal bebas menempati posisi ketiga tertinggi setelah jeruk *orange* dan anggur merah.⁷

Buah kiwi sudah mulai banyak dijual di pasaran. Namun, masyarakat Indonesia belum begitu mengenal buah kiwi dan zat-zat yang berguna bagi tubuh yang terkandung di dalamnya. Oleh sebab itu, penelitian ini mencoba membuktikan bahwa buah kiwi yang mengandung banyak antioksidan dapat memperbaiki kerusakan ginjal akibat parasetamol dengan parameter kadar ureum dan kreatinin serum. Kadar ureum dan kreatinin serum dipilih sebagai parameter yang digunakan untuk menilai fungsi ginjal dalam penelitian ini karena konsentrasinya di plasma relatif konstan.⁹

METODE

Penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *the post test-only control group design*. Sampel penelitian ini menggunakan binatang coba tikus wistar. Penelitian ini menggunakan lima kelompok, satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif mendapat pakan standar, kelompok kontrol positif mendapat pakan standar serta diinduksi parasetamol dan kelompok perlakuan mendapat pakan standar, ekstrak buah kiwi dosis berbeda untuk setiap kelompok perlakuan serta diinduksi parasetamol. Kriteria inklusi penelitian ini adalah tikus normal, berat badan 100-200 gram, berusia minimal 8 minggu sebelum diadaptasi dan tikus dalam keadaan sehat dan aktif bergerak. Kriteria eksklusi

penelitian ini adalah tikus tampak sakit (gerakan tidak aktif), mengalami diare, tidak mau makan dan minum serta tikus mati dalam masa penelitian.

Sampel penelitian diperoleh secara *simple random sampling* untuk membagi tikus menjadi 5 kelompok. Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB. Variabel terikat penelitian ini adalah kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi parasetamol setelah pemberian ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*).

HASIL

Analisis Sampel

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu – Layanan Penelitian Pra Klinik Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT-LP3HP) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sampel dipilih sesuai dengan kriteria inklusi, lalu dilakukan masa adaptasi selama 7 hari. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 35 ekor tikus Wistar yang terdiri dari 7 ekor tikus untuk masing-masing kelompok, tetapi data yang digunakan hanya 6 ekor untuk masing-masing kelompok.

Sampel penelitian ini dibagi ke dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3), dengan cara *simple random sampling*. Kelompok K1 hanya mendapat pakan standar selama 8 minggu. Kelompok K2 mendapat pakan standar selama masa perlakuan serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan. Kelompok P1 yang mendapat pakan standar selama masa perlakuan, diberi ekstrak buah kiwi dengan dosis 100 mg/kgBB selama 8 minggu serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan. Kelompok P2 mendapat pakan standar selama masa perlakuan, diberi ekstrak buah kiwi dengan dosis 200 mg/kgBB selama 8 minggu serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan. Kelompok P3 mendapat pakan standar selama masa perlakuan, diberi ekstrak buah kiwi dengan dosis 400 mg/kgBB selama 8 minggu serta diinduksi parasetamol dosis 1500 mg/kgBB selama 3 hari pada 3 hari terakhir perlakuan.

Selama masa perlakuan terdapat 2 sampel yang *drop-out* karena mati, 1 ekor dari kelompok kontrol negatif (K1) dan 1 ekor dari kelompok perlakuan 3 (P3). Jumlah sampel pada kelompok K1 maupun P3 masih memenuhi kriteria WHO sehingga penelitian masih bisa dilanjutkan.

Pengambilan darah untuk pemeriksaan ureum dan kreatinin serum dilakukan melalui darah vena dari pleksus retroorbitalis tikus. Darah dimasukkan ke dalam tabung *microtube* lalu disentrifugasi untuk mendapatkan serum. Pengukuran kadar ureum dan kreatinin serum dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada dengan menggunakan metode Urease-GLDH.

Analisis Deskriptif

Data yang diperoleh dari penelitian diuji normalitasnya dengan uji normalitas *Saphiro-Wilk*.

Tabel 1. Analisa Deskriptif Ureum

Kelompok	Rerata (mg/dl)	Standard Deviasi	Median (mg/dl)	Min. (mg/dl)	Maks. (mg/dl)
K1	37,650	2,6883	37,950	34,5	41,4
K2	35,033	8,8665	33,200	26,5	48,8
P1	42,850	20,2138	37,950	26,2	81,8
P2	30,417	8,4236	29,750	18,2	40,8
P3	28,417	5,4183	28,300	19,3	34,5

Tabel 2. Analisa Deskriptif Kreatinin

Kelompok	Rerata (mg/dl)	Standard Deviasi	Median (mg/dl)	Min. (mg/dl)	Maks. (mg/dl)
K1	0,400	0,0632	0,400	0,3	0,5
K2	0,450	0,0548	0,450	0,4	0,5
P1	0,550	0,1378	0,500	0,4	0,8
P2	0,417	0,0753	0,400	0,3	0,5
P3	0,417	0,0753	0,400	0,3	0,5

Analisis Interferensial

Sebelum melakukan analisis data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk kadar ureum dan kreatinin, karena sampel kurang dari 50 maka digunakan uji *Saphiro-Wilk* pada seluruh kelompok.

Tabel 3. Uji normalitas *Saphiro-Wilk* kadar Ureum

	K1	K2	P1	P2	P3
p	0,670*	0,355*	0,055*	0,837*	0,540*

Keterangan: *: Signifikan ($p > 0,05$).

Dari hasil uji normalitas data menggunakan *Saphiro-Wilk* didapatkan semua data memiliki nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk mengetahui adakah perbedaan kadar ureum antar kelompok.

Tabel 4. Hasil analisis *One Way ANOVA* kadar Ureum

Kelompok	n	Rerata (mg/dl)	IK95%		p
			Minimum	Maksimum	
K1	6	37,650	34,829	40,471	0,187
K2	6	35,033	25,729	44,338	
P1	6	42,850	21,637	64,063	
P2	6	30,417	21,577	39,257	
P3	6	28,417	22,731	34,103	

Uji *One Way ANOVA* menunjukkan kadar ureum antar kelompok memiliki perbedaan yang tidak bermakna ($p=0,187$).

Tabel 5. Hasil uji *Post hoc*

Kelompok	Nilai p			
	K2	P1	P2	P3
K1	0,681	0,417	0,262	0,155
K2	-	0,226	0,470	0,303
P1	-	-	0,059	0,031*
P2	-	-	-	0,753

Keterangan: *: Signifikan ($p < 0,05$)

Tabel uji *Post hoc* menunjukkan perbedaan signifikan pada kadar ureum antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 3 ($p=0,031$). Perbedaan yang tidak signifikan terdapat antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p=0,681$), kelompok perlakuan 1 ($p=0,417$), kelompok perlakuan 2 ($p=0,262$), kelompok perlakuan 3 ($p=0,155$), antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,226$), kelompok perlakuan 2 ($p=0,470$), kelompok perlakuan 3 ($p=0,303$), antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 ($p=0,059$), dan antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok perlakuan 3 ($p=0,753$).

Tabel 6. Uji normalitas *Saphiro-Wilk* kadar Kreatinin

	K1	K2	P1	P2	P3
p	0,101*	0,004	0,178*	0,212*	0,212*

Keterangan: *: Signifikan ($p > 0,05$)

Kelompok K1, P1, P2, P3 memiliki distribusi data yang normal karena memiliki nilai $p > 0,05$. Kelompok K2 memiliki nilai $p = 0,004$ ($p < 0,05$) yang menunjukkan sebaran data yang tidak normal. Karena sebaran data tidak normal maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*.

Tabel 7. Hasil uji *Kruskal-Wallis* Kreatinin

	Kreatinin
Chi-Square	8,023
Df	4
Asymp. Sig.	0,091

Dari hasil uji *Kruskal-Wallis* untuk kadar kreatinin, tidak terdapat adanya perbedaan yang bermakna kadar kreatinin antar kelompok ($p = 0,091$).

Tabel 8. Hasil uji Non – Parametrik *Mann Whitney* kadar Kreatinin

Kelompok	Nilai p			
	K2	P1	P2	P3
K1	0,171	0,022*	0,652	0,652
K2	-	0,116	0,423	0,423
P1	-	-	0,052	0,052
P2	-	-	-	1,000

Keterangan: *: Signifikan ($p < 0,05$)

Tabel uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan signifikan pada kadar kreatinin antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1 ($p = 0,022$). Perbedaan yang tidak signifikan terdapat antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p = 0,171$), kelompok perlakuan 2 ($p = 0,652$), kelompok perlakuan 3 ($p = 0,652$), antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1 ($p = 0,116$), kelompok perlakuan 2 (0,423), kelompok perlakuan 3 ($p = 0,423$), antara kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 ($p = 0,052$), kelompok perlakuan 3 ($p = 0,052$) dan antara kelompok perlakuan 2 dengan kelompok perlakuan 3 ($p = 0,753$).

Rerata kadar ureum pada kelompok kontrol negatif adalah $37,65 \pm 2,68$ mg/dl sedangkan rerata kelompok kontrol positif adalah $35,03 \pm 8,86$ mg/dl. Rerata kadar kreatinin

pada kelompok kontrol negatif adalah $0,40 \pm 0,06$ mg/dl sedangkan rerata kelompok kontrol positif adalah $0,45 \pm 0,05$ mg/dl. Ekstrak buah kiwi dapat menurunkan kadar ureum dan kreatinin tikus. Tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar ureum antar kelompok ($p=0,187$). Tidak ada perbedaan yang bermakna pada kadar kreatinin antar kelompok ($p=0,091$).

Banyak hal yang dapat menyebabkan turunnya kadar ureum, antara lain adalah gagal hati sehingga menyebabkan pembentukan ureum menurun, hidrasi berlebih sehingga terjadi pengenceran ureum, keseimbangan nitrogen negatif (malnutrisi, malabsorpsi) yang juga menyebabkan penurunan produksi ureum dan sindroma nefrotik yang menyebabkan ureum menurun karena kehilangan protein.¹⁰

Insufisiensi renal dapat diketahui dengan berbagai pemeriksaan, antara lain dengan ureum dan kreatinin. Ureum dan kreatinin serum memang bisa menggambarkan terjadinya kerusakan ginjal, namun jika kerusakan yang terjadi kecil dan tidak menyebabkan terbentuknya ureum dan kreatinin maka kadar ureum dan kreatinin dalam darah tidak akan meningkat secara signifikan.^{11,12} Pemeriksaan yang paling sering dilakukan untuk mengetahui toksisitas ginjal dalam penelitian menggunakan hewan coba adalah pemeriksaan histopatologi, karena histopatologi merupakan *gold standard* dan lebih sensitif dibandingkan dengan biomarker dari cairan tubuh.¹³

Dari hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak buah kiwi dapat menurunkan stress oksidatif yang ditimbulkan oleh parasetamol, yang ditandai dengan turunnya kadar kreatinin tikus pada kelompok P2 dan P3 dibanding dengan kadar kreatinin pada kelompok K2. Hal ini tidak berlaku untuk kelompok P1, karena kelompok P1 memiliki rerata kadar kreatinin lebih tinggi dibanding kelompok lainnya. Hal ini dapat disebabkan karena kadar kreatinin dipengaruhi oleh banyak faktor. Faktor-faktor yang dapat meningkatkan kadar kreatinin antara lain adalah makanan daging masak dan masa otot yang besar.¹⁴

Analisis kadar kreatinin pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak buah kiwi dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB menunjukkan penurunan hasil yang tidak bermakna bila dibandingkan dengan kelompok dan kontrol negatif. Pada uji *Mann Whitney* didapatkan satu kelompok yang bermakna yaitu antara kelompok K1 dan P1. Beberapa tikus pada kelompok P1 memang memiliki kadar ureum dan kreatinin yang tinggi dibanding tikus yang lain, hal ini dapat disebabkan salah satunya karena variasi genetik.¹⁵

Keterbatasan penelitian ini antara lain adalah banyak faktor perancu yang dapat mempengaruhi hasil penelitian, yang tidak dipertimbangkan sebelumnya, hanya menggunakan 7 ekor tikus pada tiap kelompok dan 2 diantaranya mati sebelum diambil sampel *post test* dan penelitian ini hanya mengukur kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar sebelum dilakukan perlakuan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pada penelitian ini ditemukan hasil yang berbeda dari literatur yang sudah dicari sebelumnya yaitu bahwa pemberian parasetamol tidak menurunkan kadar ureum serum, sedangkan didapatkan hasil yang sesuai dengan literatur sebelumnya untuk kadar kreatinin serum, yaitu bahwa pemberian parasetamol meningkatkan kadar kreatinin serum walaupun peningkatannya tidak bermakna. Pada penelitian ini juga ditemukan hasil pemberian ekstrak buah kiwi tidak menurunkan kadar ureum dan kreatinin serum tikus wistar yang diinduksi parasetamol secara bermakna.

Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan dilakukan penelitian yang lebih mempertimbangkan mengenai faktor perancu yang dapat mempengaruhi kadar ureum dan kreatinin serum. Perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat aktif pada buah kiwi yang berperan sebagai renoprotektor. Oleh sebab itu, untuk mengetahui efek renoprotektor buah kiwi diperlukan penelitian selanjutnya dengan waktu perlakuan yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

1. Myrna AN, Robert CL, Stephen AG. Cardiovascular Disease in Pregnancy: Women's Health Series. 2013;106(11):624-30.
2. Roos-Hesselink JW, Ruys PT, Johnson MR. Pregnancy in Adult Congenital Heart Disease. *Curr Cardiol Rep*. 2013;15(9):401.
3. Tim European Society of Gynecology, Association European Paediatric Cardiology, and the German Society for Gender Medicine. ESC Guidelines on the Management of Cardiovascular Diseases during Pregnancy. 2011;32:3147-97
4. Departemen Kesehatan RI. Tim Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta: 2014.

5. Departemen Kesehatan RI. Angka kematian ibu melahirkan. Jakarta: 2014.
6. Sutanto A. Kematian ibu di rumah sakit dokter kariadi tahun 2001-2005. Program pendidikan dokter spesialis obstetri ginekologi tesis. Semarang: Universitas Diponegoro: 2007.
7. Ruys TP, Roos-Hesselink JW, Hall R, Subirana-Domenech MT, Grando-Ting J, Estensen M, et al. Heart Failure in Pregnant Women with Cardiac Disease: data from the ROPAC. 2014;100(3):231-8.
8. Arora N, Kausar H, Jana N, Mandal S, Mukherjee D, Mukherjee R. Congenital Heart Disease in Pregnancy in A Low-Income Country. *Int J Gynaecol Obstet.*2015;128(1):30-2.
9. Saifuddin AB. Kematian ibu dan perinatal. Dalam: Saifuddin AB, Rachimhadhi T, Wiknjosastro GH, editor. Ilmu kebidanan sarwono prawirohardjo. Edisi keempat. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2008. hlm. 52-9.
10. Pagana KD, Pagana TJ. *Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests.* 2nd ed. St Louis: Mosby; 2002
11. Amin N, Mahmood RT, Asad MJ, Zafar M, Raja AM. Evaluating Urea and Creatinine Levels in Chronic Renal Failure Pre and Post Dialysis: A Prospective Study [internet]. 2014. [cited 2016 June 16]: 2(2). Available from *Journal of Cardiovascular Disease*
12. Renal Resource Centre. *Understanding Chronic Kidney Disease* [internet]. 2012. [cited 2016 June 16]. Available from: Renal Resource Centre
13. Bonventre JV, Vaidya VS, Schmouder R, Feig P, Dieterle F. Next-generation Biomarkers for Detecting Kidney Toxicity [internet]. 2010. [cited 2016 June 16]: 28(5): 436-440. Available from: National Institute of Health Public Access
14. National Kidney Foundation, K/DOQI. *Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification* [internet]. 2002. [cited 2016 June 16]. Available from: www.kidney.org
15. Whalan JE. *A Toxicologist's Guide to Clinical Pathology in Animals.* Washington DC (USA): Springer International Publishing; 2015