

**EFEK PEMBERIAN THYMOQUINONE DAN
MADECASSOCIDE PADA HISTOLOGI
GLOMERULUS DAN SEL TUBULUS GINJAL
MENCIT YANG DIINDUKSI ROTENONE**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh

TSURAYA HAANII HERZA PUTRI

22101101018

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM MALANG

2025

**EFEK PEMBERIAN THYMOQUINONE DAN
MADECASSOCIDE PADA HISTOLOGI
GLOMERULUS DAN SEL TUBULUS GINJAL
MENCIT YANG DIINDUKSI ROTENONE**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh
TSURAYA HAANII HERZA PUTRI
22101101018**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2025**

**EFEK PEMBERIAN THYMOQUINONE DAN
MADECASSOCIDE PADA HISTOLOGI
GLOMERULUS DAN SEL TUBULUS GINJAL
MENCIT YANG DIINDUKSI ROTENONE**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh

TSURAYA HAANII HERZA PUTRI

22101101018

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM MALANG

2025

RINGKASAN

Tsuraya Haanii Herza Putri. Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang. Efek Pemberian Thymoquinone Dan Madecassoside Pada Histologi Glomerulus Dan Sel Tubulus Ginjal Mencit Yang Diinduksi Rotenone.

Pembimbing 1: Shinta Kusumawati. **Pembimbing 2:** Arif Yahya

Pendahuluan: Paparan neurotoksin seperti rotenone diketahui dapat menginduksi stres oksidatif dan kerusakan seluler pada ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi nefroprotektif dari thymoquinone, madecassoside, serta kombinasinya, terhadap kerusakan ginjal yang diinduksi rotenone pada mencit, mengingat keterbatasan penelitian mendalam mengenai efek kombinasi kedua senyawa ini.

Metode: Studi *in vivo* ini menggunakan 24 mencit jantan Swiss (*Mus musculus*) yang dibagi menjadi delapan kelompok, masing-masing terdiri dari tiga mencit. Rotenone 2,5 mg/kg diberikan secara subcutan pada seluruh kelompok kecuali kelompok kontrol negatif. Pemberian rotenone dilakukan bersamaan dengan pemberian berbagai dosis thymoquinone (7,5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg), madecassoside (15 mg/kg), atau kombinasinya secara peroral setiap 48 jam selama 20 hari, setelah periode adaptasi 7 hari. Pramipexole (1 mg/kg) juga diuji. Efek perlindungan dinilai melalui analisis histologis organ ginjal, termasuk pengukuran diameter glomerulus dan persentase nekrosis sel tubulus proksimal, dengan menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) dan perangkat lunak Image J. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA Welch dan Kruskal-Wallis, diikuti dengan uji post hoc yang relevan.

Hasil: Analisis histologis menunjukkan bahwa induksi rotenone 2,5 mg/kg tidak menyebabkan perubahan signifikan pada diameter glomerulus mencit di seluruh kelompok ($p=0.091$). Namun, pada persentase nekrosis sel tubulus proksimal, ditemukan perbedaan signifikan antar kelompok secara keseluruhan. Induksi rotenone berhasil meningkatkan nekrosis sel tubulus proksimal secara signifikan pada kelompok kontrol positif (KP) dibandingkan kontrol negatif ($p=0.046$). Pemberian perlakuan P1 (rotenone 2,5 mg/kg + Thymoquinone 15 mg/kg), P2 (rotenone 2,5 mg/kg + Madecassoside 15 mg/kg), P3 (rotenone 2,5 mg/kg + thymoquinone 7,5 mg/kg + madecassoside 15 mg/kg), P4 (rotenone 2,5 mg/kg + thymoquinone 10 mg/kg + madecassoside 15 mg/kg), dan P5 (rotenone 2,5 mg/kg + thymoquinone 15 mg/kg + madecassoside 15 mg/kg) secara signifikan menurunkan persentase nekrosis sel tubulus proksimal dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Meskipun P1 ($p=0.046$) dan P3 ($p=0.046$) menunjukkan efek penurunan nekrosis yang signifikan, P1 dan P3 belum dapat mengembalikan kondisi sel tubulus proksimal sepenuhnya ke tingkat normal, masih berbeda signifikan dari kontrol negatif. Sebaliknya, P6 (rotenone 2,5 mg/kg + pramipexole 2,5 mg/kg) tidak menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kontrol positif ($p=0.072$).

Kesimpulan: Pemberian rotenone 2,5 mg/kg tidak menyebabkan perubahan diameter glomerulus. Namun, induksi rotenone berhasil meningkatkan nekrosis sel tubulus proksimal. Perlakuan dengan Madecassoside dan kombinasinya dengan Madecassoside secara efektif menurunkan nekrosis tubulus. Thymoquinone tunggal dan kombinasi dosis rendah juga menunjukkan penurunan nekrosis namun tidak menyentuh persentase batas normal. Sementara itu, Pramipexole tidak menunjukkan efek signifikan dalam mengurangi nekrosis tubulus proksimal.

SUMMARY

Tsuraya Haanii Herza Putri, Faculty of Medicine, Islamic University of Malang.
The Effects of Thymoquinone and Madecassocide Administration on Glomerular Histology and Kidney Tubule Cells in Rotenone-Induced Mice. Supervisor 1: Shinta Kusumawati. Supervisor 2: Arif Yahya

Introduction: Exposure to neurotoxins such as rotenone is known to induce oxidative stress and cellular damage in the kidneys. This study aimed to evaluate the nephroprotective potential of thymoquinone, madecassoside, and their combinations against rotenone-induced kidney damage in mice, considering the limited in research on the effects of combining these two compounds.

Methods: This in vivo study used 24 male Swiss mice (*Mus musculus*) divided into eight groups, each consisting of three mice. Rotenone at 2.5 mg/kg was administered subcutaneously to all groups except the negative control group. Rotenone administration was carried out concurrently with the oral administration of various doses of thymoquinone (7.5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg), madecassoside (15 mg/kg), or their combinations every 48 hours for 20 days, following a 7-day adaptation period. Pramipexole (1 mg/kg) was also tested. The protective effects were assessed through histological analysis of kidney organs, including the measurement of glomerular diameter and the percentage of proximal tubular cell necrosis, using Hematoxylin Eosin (HE) staining and Image J software. Data were statistically analyzed using Welch's ANOVA and Kruskal-Wallis tests.

Results: Histological analysis showed that rotenone induction at 2.5 mg/kg did not cause significant changes in the glomerular diameter of mice across all groups ($p=0.091$). However, regarding the percentage of tubular cell necrosis, a significant difference was found among the groups overall. Rotenone induction significantly increased tubular cell necrosis in the positive control group (KP) compared to the negative control ($p=0.046$). Treatment with P1 (rotenone 2.5 mg/kg + Thymoquinone 15 mg/kg), P2 (rotenone 2.5 mg/kg + Madecassoside 15 mg/kg), P3 (rotenone 2.5 mg/kg + thymoquinone 7.5 mg/kg + madecassoside 15 mg/kg), P4 (rotenone 2.5 mg/kg + thymoquinone 10 mg/kg + madecassoside 15 mg/kg), and P5 (rotenone 2.5 mg/kg + thymoquinone 15 mg/kg + madecassoside 15 mg/kg) significantly reduced the percentage of tubular cell necrosis compared to the positive control group. Although P1 ($p=0.046$) and P3 ($p=0.046$) showed a significant reduction in necrosis, P1 and P3 could not fully restore the tubular cell condition to normal levels, still differing significantly from the negative control. Meanwhile, P6 (rotenone 2.5 mg/kg + pramipexole 2.5 mg/kg) showed no significant difference compared to the positive control ($p=0.072$).

Conclusion: Rotenone administration at 2.5 mg/kg did not cause changes in glomerular diameter. However, rotenone induction successfully increased tubular cell necrosis. Treatment with Madecassoside and its combinations effectively reduced tubular necrosis. Thymoquinone alone and the low-dose combination also showed a reduction in necrosis but did not reach normal percentage limits. Meanwhile, Pramipexole showed no significant effect in reducing tubular necrosis.

BAB I

PENDAHULAN

1.1 Latar Belakang

Studi *in vitro* oleh Maduro et al., (2020) menyatakan bahwa terdapat hubungan antara paparan neurotoksin dan resiko kerusakan pada ginjal, pemberian senyawa neurotoksin dapat memperburuk kondisi pasien dengan gagal ginjal. Salah satu contoh neurotoksin yang relevan dengan kerusakan ginjal adalah pestisida. Studi tentang paparan pestisida di Amerika Tengah menyatakan bahwa dalam beberapa tahun terakhir, telah terjadi peningkatan kasus penyakit ginjal kronis di kalangan pekerja perkebunan yang tidak disebabkan oleh faktor risiko seperti diabetes atau hipertensi. Penelitian yang dilakukan di wilayah ini membuktikan adanya korelasi antara penyakit ginjal dan paparan terhadap pestisida (Valcke *et al.*, 2017).

Ginjal memegang peranan fundamental dalam menjaga homeostasis internal tubuh. Di antara fungsi esensialnya adalah mengatur keseimbangan cairan, elektrolit, dan pH (asam-basa) dalam organisme. Mekanisme operasional ginjal meliputi filtrasi darah, penyerapan kembali substansi vital yang diperlukan tubuh seperti air dan elektrolit, serta eliminasi kelebihan zat dalam bentuk urine. Organ ini tergolong rentan terhadap efek toksik karena menerima sekitar 25 persen dari curah jantung, yang menyebabkan organ ini mudah terpapar konsentrasi zat kimia yang signifikan. Sebagai salah satu jalur eliminasi, penggunaan obat yang tidak sesuai berisiko mengakibatkan insufisiensi ginjal, yang kemudian akan memicu

peningkatan kadar obat di dalam tubulus proksimal ginjal (Oktaria, 2019). Dalam penelitian sebelumnya mengenai toksisitas ginjal terhadap merkuri yang dilakukan oleh (Raeeszadeh et al., 2021) dibuktikan bahwa fokus evaluasi penelitian dengan konteks nefrotoksik dapat di evaluasi melalui bagian tubulus dan glomerulus. Zat beracun yang diangkut oleh aliran darah akan terkumpul di ginjal melalui filtrasi di glomerulus dan berpindah melewati sel-sel tubulus sampai urin terbentuk, sehingga setiap bagian dari nefron berisiko mengalami dampak negatif dari toksin tersebut (Rana et al., 2023).

Rotenone digunakan sebagai neurotoksin untuk mencit model Parkinson. Rotenone merupakan senyawa yang bersifat larut dalam lemak dan umumnya digunakan sebagai insektisida, termasuk dalam senyawa rotenoid yang merupakan senyawa sitotoksik alami yang diekstraksi dari tanaman dengan famili *Leguminosae*. Beberapa penelitian membuktikan bahwa paparan rotenone erat dikaitkan dengan penyakit parkinson dan beberapa penyakit neurologis lainnya (Jiang et al., 2017). Rotenone bekerja dengan cara menghambat kompleks I pada rantai transpor elektron di mitokondria. Hal ini mengganggu produksi ATP dan meningkatkan produksi radikal bebas sehingga menyebabkan terjadinya stress oksidatif yang dapat merusak berbagai komponen sel, termasuk DNA, protein, dan lipid, yang pada akhirnya dapat menyebabkan disfungsi mitokondria (Betarbet & Greenamyre, 2008). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa rotenone dengan dosis 2 mg/ kg dan 4 mg/kg per hari selama 28 hari dapat menyebabkan toksisitas pada ginjal yang ditandai dengan peningkatan BUN dan kreatinin, selain itu pada bagian histologis tampak adanya vakuolisasi sel epitel tubulus (Jiang et al., 2017).

Mengingat rotenone menginduksi kerusakan seluler melalui mekanisme stres oksidatif, penting untuk mengeksplorasi senyawa yang dapat memberikan perlindungan terhadap efek toksik ini. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa thymoquinone efektif dalam menetralkan radikal bebas dan sebagai anti-inflamasi (Shaterzadeh-Yazdi *et al.*, 2018) Thymoquinone diperoleh dari minyak *Nigella sativa*, dengan kandungan berkisar antara 0.4% hingga 0.45% dari total minyak. Thymoquinone meningkatkan kinerja enzim antioksidan seperti superoxide dismutase dan katalase, serta meningkatkan kadar glutathione, yang membantu mengurangi stres oksidatif. Selain itu thymoquinone efektif dalam mengurangi ekspresi molekul pro-inflamasi seperti interleukin-1 (IL-1), IL-6, dan faktor nekrosis tumor alpha (TNF- α) serta meningkatkan interleukin-10 (IL-10), yang merupakan salah satu sitokin anti-inflamasi (Ahmad *et al.*, 2013).

Selain thymoquinone, madecassoside juga dinilai sebagai senyawa potensial untuk mengurangi stress oksidatif. Madecassoside adalah saponin triterpenoid yang terutama ditemukan pada tanaman *Centella asiatica*. Madecassoside secara tradisional telah lama digunakan di India, Malaysia, dan negara-negara Asia lainnya sebagai obat peningkat daya ingat dalam literatur Ayurveda, dan telah terbukti memiliki beberapa aktivitas farmakologis pada sistem saraf pusat. *Centella asiatica* (termasuk asiaticoside dan madecassoside) membuktikan aktivitas antiinflamasi dengan menekan mediator inflamasi seperti NO, PGE2, dan TNF- α Mekanisme ini melibatkan penghambatan jalur pensinyalan seperti TLR4/MyD88/NF- κ B (Bandopadhyay *et al.*, 2023). Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa madecassoside meningkatkan aktivitas enzim

superoksida dismutase dan glutathione peroxidase di ginjal tikus yang diinduksi toksisitas doxorubicin (DOX) (Su *et al.*, 2015a).

Meskipun penelitian sebelumnya telah membuktikan potensi thymoquinone dan madecassoside dalam mengurangi stres oksidatif secara individual, kombinasi dari kedua senyawa ini dalam konteks nefroprotektif terhadap kerusakan yang diinduksi oleh rotenone belum diteliti secara mendalam.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Utama

Apakah pemberian kombinasi senyawa aktif thymoquinone, madecassoside dapat mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus mencit yang diinduksi rotenone?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1. Apakah pemberian rotenone menyebabkan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit?
2. Apakah pemberian Thymoquinone dapat mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone?
3. Apakah pemberian Madecassoside dapat mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone?
4. Apakah pemberian kombinasi Madecassoside dan Thymoquinone mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui apakah pemberian rotenone menyebabkan perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit.
2. Mengetahui apakah pemberian Thymoquinone dapat mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone.
3. Mengetahui apakah pemberian Madecassoside dapat mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone.
4. Mengetahui apakah kombinasi Madecassoside dan Thymoquinone mempengaruhi perubahan diameter pada glomerulus dan nekrosis pada sel tubulus proksimal ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teori

1. Sebagai kontribusi literatur ilmiah tentang interaksi tiga senyawa tersebut dan menyajikan data baru.
2. Sebagai dasar penelitian di masa depan tentang pengembangan obat herbal.

1.4.2 Manfaat Praktis

Pengembangan thymoquinone dan madecassoside sebagai nefroprotektif

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Pemberian rotenone dengan dosis 2,5 mg/kg selama 20 hari dapat menyebabkan nekrosis pada sel tubulus proksimal meskipun tidak menyebabkan perubahan diameter glomerulus yang signifikan dengan dosis dan durasi paparan yang digunakan.
- 2) Pemberian thymoquinone dosis 15 mg/kg secara tunggal efektif menurunkan persentase nekrosis sel tubulus proksimal namun berbeda terhadap kelompok sehat, selain itu juga tidak mempengaruhi diameter glomerulus dengan dosis dan durasi paparan yang digunakan.
- 3) Pemberian madecassocide dosis 15 mg/kg secara tunggal efektif menurunkan persentase nekrosis sel tubulus proksimal hingga mencapai kondisi yang sama dengan kelompok sehat, namun tidak mempengaruhi diameter glomerulus. dengan dosis dan durasi paparan yang digunakan.
- 4) Pemberian kombinasi thymoquinone dengan dosis 10 mg/kg dan 15 mg/kg dapat menurunkan nekrosis sel tubulus proksimal hingga tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal. Sementara kombinasi dengan dosis 7,5 mg/kg belum mencapai kondisi yang sama dengan kelompok normal. Seluruh kombinasi tidak menyebabkan perubahan signifikan pada diameter glomerulus dengan dosis dan durasi paparan yang digunakan.

7.2. Kelemahan penelitian

- 1) Jumlah sampel yang terbatas sehingga mempengaruhi kekuatan statistik sehingga data menjadi lebih rentan terhadap variabilitas pada individu atau keberadaan *outlier* pada suatu kelompok.
- 2) Dosis dan durasi paparan belum cukup untuk menyebabkan kerusakan tahap akhir pada glomerulus
- 3) Tidak adanya evaluasi ginjal secara menyeluruh melalui biomarker fungsional ginjal.
- 4) Keterbatasan cakupan parameter pada penilaian histologi

7.3. Saran

Hal-hal berikut dapat dipertimbangkan sebagai saran untuk penelitian selanjutnya:

- 1) Penambahan jumlah sampel dapat dilakukan guna memperkuat kekuatan statistik
- 2) Untuk mencapai kerusakan pada glomerulus dosis serta durasi paparan bisa ditambahkan
- 3) Menambahkan analisis pengukuran biomarker fungsional ginjal, seperti kadar kreatinin serum, BUN, atau ekskresi protein urin.
- 4) Memperluas parameter pengukuran histologi seperti penilaian infiltrasi sel radang.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeeb Mohamed, A. (2014) *Morphological anatomical and histological study of the normal kidneys in the House Mice (Mus Musculus)*, MJPS....
- Ahmad, A. *et al.* (2013) 'A review on therapeutic potential of Nigella sativa: A miracle herb', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), pp. 337–352. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1).
- Al-Gabri, N.A. *et al.* (2021) 'Therapeutic potential of thymoquinone and its nanoformulations in pulmonary injury: A comprehensive review', *International Journal of Nanomedicine*. Dove Medical Press Ltd, pp. 5117–5131. Available at: <https://doi.org/10.2147/IJN.S314321>.
- Ali, B.H. *et al.* (2015) 'The effect of thymoquinone treatment on the combined renal and pulmonary toxicity of cisplatin and diesel exhaust particles', *Experimental Biology and Medicine*, 240(12), pp. 1698–1707. Available at: <https://doi.org/10.1177/1535370215579013>.
- Ardah, M.T., Merghani, M.M. and Haque, M.E. (2019) 'Thymoquinone prevents neurodegeneration against MPTP in vivo and modulates α -synuclein aggregation in vitro', *Neurochemistry International*, 128, pp. 115–126. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.NEUINT.2019.04.014>.
- Arrington, L.R. (Lewis R.) (1972) *Introductory laboratory animal science; the breeding, care, and management of experimental animals*. Danville, Ill: Interstate Printers & Publishers.
- Bandopadhyay, S. *et al.* (2023) 'Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: A review', *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. John Wiley and Sons Inc, pp. 593–608. Available at: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17635>.
- Betarbet, R. and Greenamyre, J.T. (2008) *Complex I Inhibition, Rotenone And Parkinson's Disease*.
- Chatterjee, S. (2016) 'Oxidative Stress, Inflammation, and Disease', in *Oxidative Stress and Biomaterials*. Elsevier, pp. 35–58. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803269-5.00002-4>.
- Chevalier, R.L. (2016) 'The proximal tubule is the primary target of injury and progression of kidney disease: Role of the glomerulotubular junction', *American Journal of Physiology - Renal Physiology*. American Physiological Society, pp. F145–F161. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00164.2016>.
- Conour, L.A., Murray, K.A. and Brown, M.J. (2006) *Preparation of Animals for Research-Issues to Consider for Rodents and Rabbits*. Available at: <http://ilarjournal.oxfordjournals.org/>.
- Cupples, W.A. (2007) 'Interactions contributing to kidney blood flow autoregulation', *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 16(1). Available at: <https://journals.lww.com/co->

nephrolhypertens/fulltext/2007/01000/interactions_contributing_to_kidney_blood_flow.9.aspx.

- Dera, A.A. *et al.* (2020) ‘Thymoquinone attenuates oxidative stress of kidney mitochondria and exerts nephroprotective effects in oxonic acid-induced hyperuricemia rats’, *BioFactors*, 46(2), pp. 292–300. Available at: <https://doi.org/10.1002/biof.1590>.
- Ebrahimi, S.S. *et al.* (2017) ‘Thymoquinone exerts neuroprotective effect in animal model of Parkinson’s disease’, *Toxicology Letters*, 276(May), pp. 108–114. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.05.018>.
- El-Din, K., El-Tahir, H. and Bakeet, D.M. (no date) *The Black Seed Nigella sativa Linnaeus-A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of its Volatile Oil*.
- Elmore, S.A. *et al.* (2016) ‘Recommendations from the INHAND Apoptosis/Necrosis Working Group’, *Toxicologic Pathology*, 44(2), pp. 173–188. Available at: <https://doi.org/10.1177/0192623315625859>.
- Eroschenko, V.P. and Fiore, M.S.H. di. (2008) *diFiore’s atlas of histology with functional correlations*. 11th ed., *Atlas of histology with functional correlations*. 11th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins.
- Faria, J. *et al.* (2019) ‘Kidney-based in vitro models for drug-induced toxicity testing’, *Archives of Toxicology*. Springer, pp. 3397–3418. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02598-0>.
- Gartner, L.P. and Hiatt, J.L.. (2007) *Color textbook of histology*. Saunders/Elsevier.
- Goswami, P. *et al.* (2016) ‘Endoplasmic Reticulum Stress Plays a Key Role in Rotenone-Induced Apoptotic Death of Neurons’, *Molecular Neurobiology*, 53(1), pp. 285–298. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12035-014-9001-5>.
- Hermawan, I.P. (2016) ‘Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) terhadap Nekrosis Glomerulus dan Tubulus Ginjal Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Di Papar Asap Rokok’, *Universitas Airlangga* [Preprint].
- Hirst, J. (2009) ‘Towards the molecular mechanism of respiratory complex I’, *Biochemical Journal*, 425(2), pp. 327–339. Available at: <https://doi.org/10.1042/BJ20091382>.
- Jiang, X.W. *et al.* (2017) ‘Rotenone induces nephrotoxicity in rats: oxidative damage and apoptosis’, *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(7), pp. 528–536. Available at: <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1333553>.
- Jin, Q. *et al.* (2023) ‘Oxidative stress and inflammation in diabetic nephropathy: role of polyphenols’, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1185317>.
- Johns, E.J., Kopp, U.C. and DiBona, G.F. (2011) ‘Neural control of renal function’, *Comprehensive Physiology*, 1(2), pp. 731–767. Available at: <https://doi.org/10.1002/cphy.c100043>.

- Khattab, M.M. and Nagi, M.N. (2007) 'Thymoquinone Supplementation attenuates Hypertension and Renal Damage in Nitric Oxide deficient Hypertensive Rats', *Phytother. Res*, 21, pp. 410–414. Available at: <https://doi.org/10.1002/ptr>.
- Kunjumon, R. *et al.* (2021) 'Madecassoside encapsulated in alginate chitosan nanoparticles exerts anti-excitotoxicity effects in pilocarpine-induced seizure', *Phytomedicine Plus*, 1(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2020.100004>.
- Mabrouk, A. and Cheikh, H. Ben (2016) 'Thymoquinone ameliorates lead-induced suppression of the antioxidant system in rat kidneys', *Libyan Journal of Medicine*, 11. Available at: <https://doi.org/10.3402/ljm.v11.31018>.
- Mekhemar, M. *et al.* (2022) 'Thymoquinone-Mediated Modulation of Toll-like Receptors and Pluripotency Factors in Gingival Mesenchymal Stem/Progenitor Cells', *Cells*, 11(9). Available at: <https://doi.org/10.3390/cells11091452>.
- Mescher, A.L.. and Junqueira, L.C.U. (2013) *Junqueira's basic histology : text and atlas*. McGraw-Hill Medical.
- Meyerholz, D.K. and Beck, A.P. (2018) 'Fundamental concepts for semiquantitative tissue scoring in translational research', *ILAR journal*, 59(1), pp. 13–17.
- Mount, D.B. (2014) 'Thick Ascending Limb of the Loop of Henle', *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 9(11). Available at: https://journals.lww.com/cjasn/fulltext/2014/11000/thick_ascending_limb_of_the_loop_of_henle.22.aspx.
- Nagata, M. (2016) 'Podocyte injury and its consequences', *Kidney International*, 89(6), pp. 1221–1230. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.KINT.2016.01.012>.
- Nagi, M.N. and Mansour, M.A. (2000) 'Protective Effect Of Thymoquinone Against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity In Rats: A Possible Mechanism Of Protection', *Pharmacological Research*, 41(3). Available at: <https://doi.org/10.1006/rphrs.1999>.
- Oktaria, R. and Dewi Puspita Sari, R. (2019) *Efek Protektif Thymoquinone Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Spraque dawley yang Diinduksi Rifampisin, J Agromedicine | Volume*.
- Peters, S. (2017) 'Excretory System', in J. Vonk and T. Shackelford (eds) *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Cham: Springer International Publishing, pp. 1–6. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-47829-6_1287-1.
- Prado De Negreiros Nogueira Maduro, I., Brandão, A.R.J. and Israel, K.C.P. (2020) 'Acute nephrotoxicity and neurotoxicity associated with concentrated star fruit juice consumption', *BMJ Case Reports*, 13(12). Available at: <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-234460>.
- Priante, G. *et al.* (2019) 'Cell death in the kidney', *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms20143598>.

- Proskuryakov, S.Y., Konoplyannikov, A.G. and Gabai, V.L. (2003) 'Necrosis: a specific form of programmed cell death?', *Experimental Cell Research*, 283(1), pp. 1–16. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0014-4827\(02\)00027-7](https://doi.org/10.1016/S0014-4827(02)00027-7).
- Radad, K. *et al.* (2019) 'Rotenone: From modelling to implication in Parkinson's disease', *Folia Neuropathologica*. Termedia Publishing House Ltd., pp. 317–326. Available at: <https://doi.org/10.5114/fn.2019.89857>.
- Ramalingam, M. *et al.* (2024) 'Rotenone and Its Derivative, Rotenoin A, Induce Neurodegeneration Differentially in SH-SY5Y Cells', *Biomedicines*, 12(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines12081703>.
- Sayed, A.A.R. *et al.* (2007) 'Thymoquinone Decreases AGE-induced NF- κ B Activation in Proximal Tubular Epithelial Cells', *Phytother. Res*, 21, pp. 898–899. Available at: <https://doi.org/10.1002/ptr>.
- Shaterzadeh-Yazdi, H. *et al.* (2018) 'An Overview on Renoprotective Effects of Thymoquinone', *Kidney Diseases*, 4(2), pp. 74–82. Available at: <https://doi.org/10.1159/000486829>.
- Sri Rejeki, P., Putri Cahyaning, E.A. and Prasetya Eka, R. (2018) *OVARIEKTOMI PADA TIKUS DAN MENCIT*. Surabaya.
- Standley, A., Xie, J., Lau, A.W., *et al.* (2024) 'Working with Miraculous Mice: Mus musculus as a Model Organism', *Current protocols*, p. e70021. Available at: <https://doi.org/10.1002/cpz1.70021>.
- Standley, A., Xie, J., Lau, A.W.Y., *et al.* (2024) 'Working with Miraculous Mice: Mus musculus as a Model Organism', *Current Protocols*, 4(10). Available at: <https://doi.org/10.1002/cpz1.70021>.
- Su, Z. *et al.* (2015a) 'Protective effects of madecassoside against Doxorubicin induced nephrotoxicity in vivo and in vitro', *Scientific Reports*, 5. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep18314>.
- Su, Z. *et al.* (2015b) 'Protective effects of madecassoside against Doxorubicin induced nephrotoxicity in vivo and in vitro', *Scientific Reports*, 5. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep18314>.
- Suchy-Dicey, A.M. *et al.* (2016) 'Tubular Secretion in CKD', *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(7). Available at: https://journals.lww.com/jasn/fulltext/2016/07000/tubular_secretion_in_ckd.29.aspx.
- Valcke, M. *et al.* (2017) 'Pesticide exposures and chronic kidney disease of unknown etiology: an epidemiologic review', *Environmental Health: A Global Access Science Source*. BioMed Central Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12940-017-0254-0>.
- Wang, W. *et al.* (2018) 'Madecassoside prevents acute liver failure in LPS/D-GalN-induced mice by inhibiting p38/NF- κ B and activating Nrf2/HO-1 signaling', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 103, pp. 1137–1145. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2018.04.162>.

- Whary, M.T. *et al.* (2015) 'Chapter 3 - Biology and Diseases of Mice', in *Laboratory Animal Medicine: Third Edition*. Elsevier Inc., pp. 43–149. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00003-1>.
- Xu, C.-L. *et al.* (2013) 'Neuroprotective effects of madecassoside in early stage of Parkinson's disease induced by MPTP in rats', *Fitoterapia*, 90, pp. 112–118. Available at: <https://doi.org/https://doi-org.ub.remotexs.co/10.1016/j.fitote.2013.07.009>.
- Zhang, Z.N. *et al.* (2017) 'Subcutaneous rotenone rat model of Parkinson's disease: Dose exploration study', *Brain Research*, 1655, pp. 104–113. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.11.020>.
- Zhu, Y.T. *et al.* (2022) 'Mitochondrial Oxidative Stress and Cell Death in Podocytopathies', *Biomolecules*. MDPI. Available at: <https://doi.org/10.3390/biom12030403>.

