

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MADU DAN
HABBATUSSAUDA TERHADAP KADAR UREUM TIKUS**
**Studi Eksperimental Terhadap Tikus *Rattus Wistar* yang di Induksi
*Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)***

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar sarjana kedokteran



Diajukan Oleh:

Hanifah Tiara Putri

30101800075

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2021**

SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MADU DAN
HABBATUSSAUDA TERHADAP KADAR UREUM TIKUS
Studi Eksperimental Terhadap Tikus *Rattus Wistar* yang di Induksi *Unilateral Ureteral*
Obstruction (UUO)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Hanifah Tiara Putri

30101800075

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 11 Oktober 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

dr. Ulfah Dian Indrayani M.Sc.

Anggota Tim Penguji

Dr.dr. Susilorini Sp.PA.M.Si.Med.dr., MSi.M

Pembimbing II

dr. Kamilia Dwi Utami M. Biomed

dr. Masyhudi AM M.Kes

Semarang, 8 November 2021.....

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr.dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hanifah Tiara Putri

NIM : 30101800075

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MADU DAN HABBATUSSAUDA
TERHADAP KADAR UREUM TIKUS

Studi Eksperimental Tikus *Rattus Wistar* yang di Induksi *Unilateral Ureteral
Obstruction (UUO)*

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh karya tulis orang lain tanpa menyertakan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 08 November 2021



Hanifah Tiara Putri

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbilalamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan nikmat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MADU DAN HABBATUSSAUDA TERHADAP KADAR UREUM TIKUS Studi Eksperimental Terhadap Tikus *Rattus Wistar* yang dii Induksi *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)*”** ini dapat terselesaikan yang mana Sebagian dana penelitian ini dibiayai dengan dana penelitian internal FK Unissula dengan nomor kontrak 15/P-KEL/UPR-FK/III/2021.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan banyak terima kasih kepada :

1. DR. dr. Setyo Trisnadi, Sp.KF.,SH., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc. dan dr. Kamilia Dwi Utami, M.Biomed. selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Skripsi ini.
3. dr. Susilorini, M.Si, Med, Sp. PA dan dr. Masyhudi AM, M.Kes. selaku dosen penguji yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Skripsi ini.

4. Laboratorium Gizi PSPG UGM beserta staf (Pak Yuli Yanto), Admin PSPG UGM (Bu Th. Tri Susanti Nugraheni) yang telah membantu dalam penelitian ini.
5. Ayah Ir. Muchammad Mulyadi, Mamah Renny Liesharyanto Wijayawati, SE, dan Adik Asiilah Oatafiah, yang telah memberikan do'a, kasih sayang, fasilitas, dukungan, dan semangat yang tiada henti selama masa perkuliahan dan penyusunan Skripsi ini.
6. Om Drajat Wahyu Prihartanto, SE, Tante dr. Liestyorini Noer Putriaji, Adik Nazhan Al Rashid, Yangkung Soejanto (Alm.), dan Yangti Lilies Hartiningsih, yang telah memberikan do'a, kasih sayang, fasilitas, dukungan, dan semangat yang tiada henti selama masa perkuliahan dan penyusunan Skripsi ini.
7. Mba Cynthia Andriana Illahi Hermawan, Mba Fadithya Rizki Nasafly, dan Mas Rizal Luthfi Prasetyo yang telah banyak membantu selama penyusunan Skripsi ini. Gita Atiqa Faidiansyah, Hilwa Qonita Almazia, Yusri Apriliani Karyono, dan Mirella Fatika Balqiszura, sahabat seperjuangan penelitian yang telah banyak membantu dan mendukung selama penelitian. Fathimah Az-Zahra', Gita Atiqa Faidiansyah, Gita Dwi Safitri, dan Hilwa Qonita Almazia, sahabat seperjuangan selama menjalani studi sarjana kedokteran yang telah banyak membantu dan mendukung selama ini. Keluarga besar Asisten Laboratorium Histologi, kakak – kakak Kromofil 2017, adik – adik Fibrosa 2019, dan khususnya Axon 2018 (Aulia Haydar Adi Prasetya, Muhammad Ikhlasul Amal, Arvin Naufal Wafi, Wildan Chanieful Wajiih, Azmi

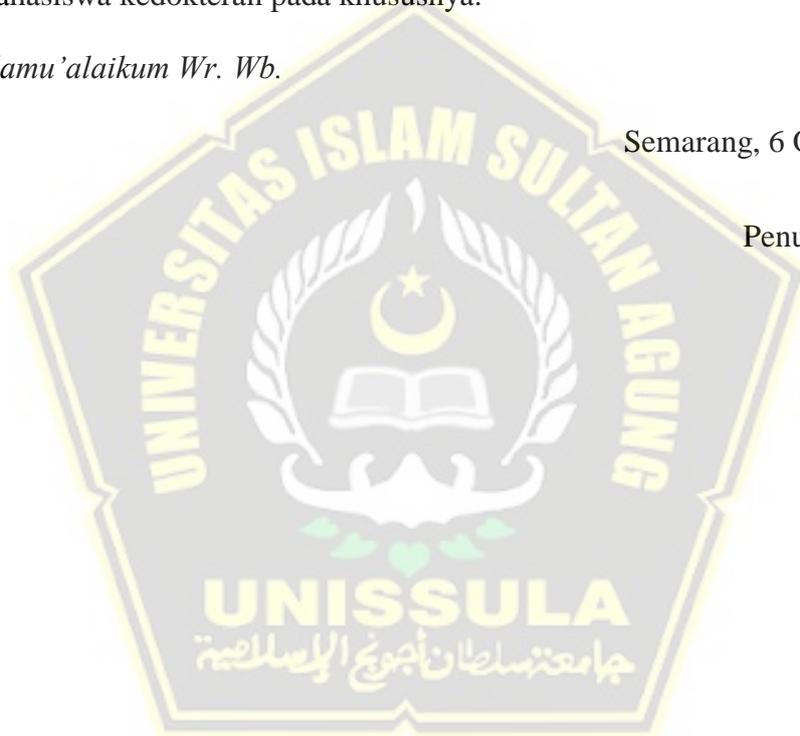
Zahratunnisa, Aina Fasnildha Putri, Anisa Dwi Tyastuti, Yusri Apriliani Karyono, Yulianti Dewi Maharani) serta keluarga besar Avenzoar 2018 yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan oleh penulis. Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat dan memberi wawasan bagi pembaca pada umumnya dan bagi mahasiswa kedokteran pada khususnya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 6 Oktober 2021

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4.1 Tujuan Umum.....	6
1.4.2 Tujuan Khusus.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.3 Manfaat Teoritis.....	7
1.4.4 Manfaat Praktis	8
BAB II.....	9
2.1 Urem	9
2.2 Penyakit Ginjal Kronik.....	10
2.1.1 Definisi Penyakit Ginjal Kronik.....	10
2.1.2 Etiologi pada Penyakit Ginjal Kronik.....	11
2.1.3 Patofisiologi dan Patogenesis Penyakit Ginjal Kronik	11
2.1.4 Klasifikasi Penyakit Ginjal Kronik	13
2.3 Madu	14
2.4 Habbatussauda	18
2.5 Irbesartan.....	21
2.6 <i>Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)</i>	24

2.7	Kombinasi Madu dan Habbatussauda terhadap Penyakit Ginjal Kronik	28
2.8	Kerangka Teori	30
2.9	Kerangka Konsep	31
2.10	Hipotesis	31
BAB III		32
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	32
3.2	Variabel dan Definisi Operasional	32
3.3.1	Varibel Penelitian	32
3.3.2	Definisi Operasional	32
3.3	Populasi dan Sampel	33
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	35
3.4.1	Alat Penelitian	35
3.4.2	Bahan Penelitian	35
3.5	Cara Penelitian	35
3.5.1	Pembuatan Ekstrak	35
3.5.2	Penentuan Dosis	36
3.5.3	Pemberian Perlakuan	37
3.5.4	Cara Pengambilan Serum	39
3.5.5	Cara Pemeriksaan Kadar Ureum	40
3.6	Alur Penelitian	41
3.7	Tempat dan Waktu Penelitian	42
3.8	Analisis Hasil	42
BAB IV		44
4.1	Hasil Penelitian	44
4.2	Pembahasan Hasil	49
BAB V		54
5.1	Kesimpulan	54
5.2	Saran	55
	DAFTAR PUSTAKA	56
	LAMPIRAN	59

DAFTAR SINGKATAN

ACE	: <i>Angiotensin Converting Enzym</i>
ACE-I	: <i>Angiotensin Converting Enzym Inhibitor</i>
ARB	: <i>Angiotensin Reseptor Blocker</i>
AT1R	: <i>Angiotensin II type 1 receptor</i>
CCB	: <i>Calcium Channel-Blocking</i>
EDRF	: <i>Endothelium-Derived Relaxing Factors</i>
EMT	: <i>Transisi Epitelial-Mesenkimal</i>
ESRD	: <i>End-Stage Renal Disease</i>
ET-1	: <i>Endotelin-1</i>
GFR	: <i>Glomerular Filtration Rate</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HO- 1	: <i>Heme Oxygenase- 1</i>
ICAM-1	: <i>Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i>
MDA	: <i>Malondialdehyd</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor-kappaB</i>
Nox	: <i>NAD(P)H oxidase</i>
Nrf2	: <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
PGK	: <i>Penyakit Ginjal Kronik</i>
PPAR γ	: <i>Peroxisome Proliferator Activator Receptor γ</i>
RAAS	: <i>Renin-Angiotensin-Aldosteron System</i>
RBF	: <i>Renal Blood Flow</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>

ROS : *Reactive Oxygen Species*

SOD : *Superoxide dismutase*

TGF- β 1 : *Transforming Growth Factor β 1*

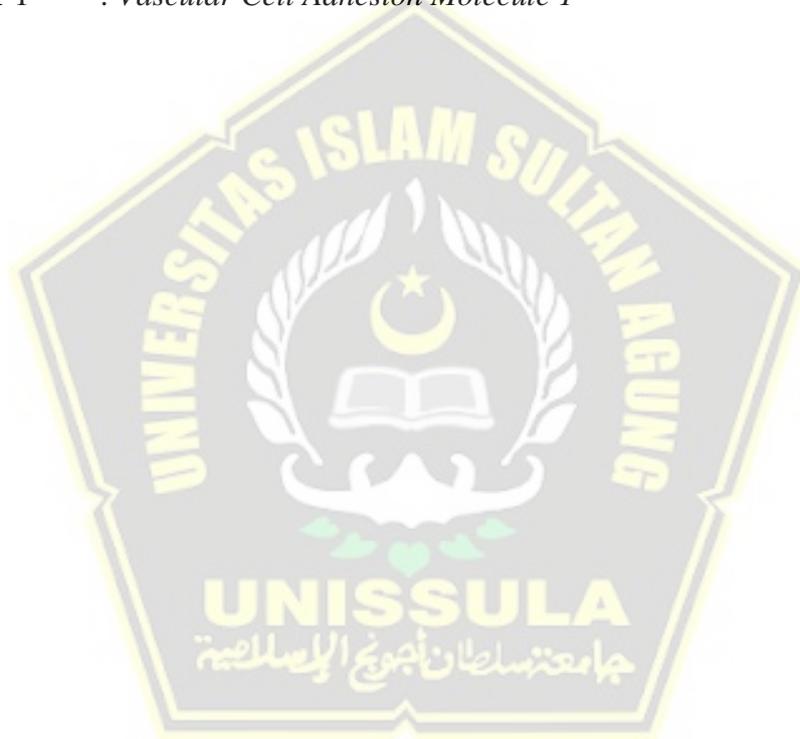
TLR-4 : *Toll-Like Receptor 4*

TNF- α : *Tumor Necrosis Factor α*

TSA : *Total Status Antioksidan*

UUO : *Unilateral Uretreal Obstruction*

VCAM-1 : *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Nilai rujukan kadar ureum	9
Tabel 2. 2 Keadaan yang dapat mempengaruhi kadar ureum	10
Tabel 2. 3 Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan derajat penyakitnya ...	14
Tabel 2. 4 Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi	14
Tabel 4. 1 Hasil uji Shapiro-Wilk dan uji Levene's Test kadar ureum	45
Tabel 4. 2 Hasil uji One Way Anova rerata kadar ureum pre dan post test.....	46
Tabel 4. 3 Hasil uji Post Hoc Tamhane's T2 rerata kadar ureum pre test	46
Tabel 4. 4 Hasil uji Post Hoc Tamhane's T2 rerata kadar ureum post test	47
Tabel 4. 5 Hasil uji T Berpasangan kadar ureum Pre Test dan Post Test	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Patofisiologi Penyakit Ginjal Kronik	13
Gambar 2. 2 Unilateral Ureteral Obstruction (UUO).....	27
Gambar 4. 1 Grafik rerata kadar ureum pre test dan post test.....	44



INTISARI

Madu memiliki beberapa kandungan yang dapat memberikan efek antioksidan, sedangkan habbatussauda memiliki kandungan *Thymoquinone* yang memiliki efek antioksidan, anti inflamasi, dan anti mikroba. Kedua bahan tersebut jika dikombinasikan dapat meningkatkan efek antioksidan 3-4 kali lipat yang terkandung, sehingga memiliki efek protektif terhadap ginjal yang lebih besar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

Penelitian *pre-post test randomized controlled group design* ini menggunakan tikus putih jantan *Rattus Wistar* sebanyak 30 ekor yang di randomisasi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 (Kelompok Normal), Kelompok 2 (Irbesartan 13,5 mg/KgBB/hari), Kelompok 3 (kombinasi madu 0,675 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 0,5 mL/KgBB), Kelompok 4 (kombinasi madu 1,35 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 1,0 mL/KgBB), Kelompok 5 (kombinasi madu 2,025 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 2,0 mL/KgBB). Pemberian kombinasi selama 21 hari. Kadar ureum diukur dengan menggunakan metode enzimatik. Data *pre* dan *post test* dianalisis dengan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane's T2*.

Hasil pengukuran kadar ureum *pre test* menunjukkan peningkatan kadar ureum pada semua kelompok yang diinduksi UUO, sedangkan pengukuran kadar ureum *post test* menunjukkan penurunan kadar ureum dibandingkan *pre test*.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda menurunkan kadar ureum pada tikus yang diinduksi UUO.

Kata Kunci : UUO, Madu, Habbatussauda, Ureum

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit Ginjal Kronik (PGK) yaitu penyakit pada ginjal yang berkembang secara progresif yang ditandai dengan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS), peningkatan produksi anion superoksida, peningkatan *NAD(P)H oxidase* (Nox), penurunan sistem antioksidan, serta penurunan kadar superoksida dismutase dan katalase akan memicu terjadinya apoptosis dan fibrosis, sehingga hal tersebut berpengaruh terhadap peningkatan kadar ureum.

Penelitian mengenai pemberian madu dapat meningkatkan kadar antioksidan sehingga menghentikan proses kerusakan sel sehingga terjadi perbaikan pada sel-sel ginjal sehingga dapat menurunkan kadar fungsi ginjal (ureum dan kreatinin) (Asfur & Sadewo, 2019), sementara penelitian mengenai kadar antioksidan *thymoquinone* yang terkandung dalam habbatussauda dapat mencegah kerusakan dan perubahan struktur ginjal serta memiliki efek anti apoptosis (Oktaria et al., 2019), tetapi belum banyak yang menggabungkan kedua bahan tersebut. Penelitian pada tikus akibat sisplatin membuktikan bahwa kombinasi antara habbatussauda dan madu dapat meningkatkan kapasitas antioksidan 3-4 kali lipat dibandingkan dikonsumsi terpisah, sehingga kombinasi tersebut dapat memberikan efek protektif yang sinergis pada tikus yang disebabkan sisplatin (Alkadri et al., 2019).

Menurut hasil Riskesdas tahun 2013, sekitar 0,2% dari penderita yang terdiagnosis penyakit ginjal kronik memiliki umur ≥ 15 tahun dan terjadi peningkatan yang tajam sesuai dengan penambahan umur, selain itu prevalensi pada laki-laki 0,3% lebih tinggi daripada perempuan, dengan provinsi prevalensi tertinggi yaitu Sulawesi Tengah yaitu sebesar 0,5% (Depkes, 2017). Berdasarkan *Global Burden of Disease* tahun 2010, penyakit ginjal kronik menjadi penyebab kematian ke-18 pada tahun 2010, sementara berdasarkan *Indonesia Renal Registry* (IRR) dari 249 renal unit yang melapor, 30.554 pasien aktif menjalani dialysis pada tahun 2015, sebagian besar pasien penyakit ginjal kronik. Angka mortalitas pada pasien dengan hemodialisis pada tahun 2015 sebanyak 1.243 orang yaitu lama hidup dengan hemodialisis 1-<3 bulan, dengan proporsi terbanyak yaitu lama hidup dengan hemodialisis 6-12 bulan (Depkes, 2017).

Madu mengandung asam organik, mineral, vitamin, fruktosa, serta kaya akan zat aktif sebagai antioksidan fenolik yang dapat melawan stress oksidatif. Anjuran menggunakan madu sebagai obat alami tertuang di dalam hadist (Yeni MDalil, 2016) :

حَدَّثَنِي مُحَمَّدُ بْنُ عَبْدِ الرَّحِيمِ أَحْبَرَنَا سُرَيْجُ بْنُ يُونُسَ أَبُو الْحَارِثِ حَدَّثَنَا مَرْوَانُ بْنُ شُجَاعٍ عَنْ
 سَالِمِ الْأَفْطَسِ عَنْ سَعِيدِ بْنِ جُبَيْرٍ عَنْ ابْنِ عَبَّاسٍ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ الشِّفَاءُ فِي
 ثَلَاثَةٍ فِي شَرْطَةِ مَحْجَمٍ أَوْ شَرْبَةِ عَسَلٍ أَوْ كَيْتَةِ بِنَارٍ وَأَنَا أَنْهَى أُمَّتِي عَنِ الْكَيِّ (رواه البخاري)

Telah disampaikan oleh Muhammad bin Abdirrahman, diberitakan kepada kami oleh Suraij bin Yunus Anu al-Harits disampaikan kepada kami oleh Marwan bin S dari Syuja' dari Salim al-Aqthas dari Said bin Jabir dari Ibnu

Abbas dari Nabi Saw bersabda: "Kesembuhan itu terdapat dalam tiga hal; sayatan pisau bekam, meminum madu dan sengatan api, akan tetapi aku melarang mumatku melakukan sengatan api. (HR Bukhari Juz; 17, no 5248, HR. Bukhari, Muslim, Imam Ahmad, Abu Syaibah, Al-Baihaqi, Tabrani, al-Nasa'i dan nal-Thabari).

Penelitian yang dilakukan sebelumnya dengan memberikan madu 1,35 mL/tikus/hari selama 15 hari pada tikus putih yang diinduksi tuak dapat menurunkan kadar fungsi ginjal (ureum dan kreatinin) (Asfur & Sadewo, 2019), efek antiradikal bebas juga ditemukan pada penelitian dengan dosis pemberian 0,08 gram madu dengan jenis madu randu dan madu kelengkeng (Parwata et al., 2010). Penelitian lain menggunakan madu dalam bentuk *honeycomb* yang di ekstrak menggunakan etanol sebanyak 500 mg/KgBB dan 750 mg/KgBB dapat memberikan efek antioksidan dan efek protektif terhadap nefrotoksisitas pada darah yang di induksi alumunium (Bakour et al., 2017).

Habbatussauda (*Nigella sativa L.*) atau jintan hitam mengandung senyawa bioaktif *thymoquinone* sebagai antioksidan dan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) sebagai bahan pembentuk membran. Anjuran penggunaan habbatussauda sebagai obat alami tercantum di dalam hadist (Yeni MDalil, 2016) :

حَدَّثَنَا عَبْدُ اللَّهِ بْنُ أَبِي شَيْبَةَ حَدَّثَنَا عُبَيْدُ اللَّهِ حَدَّثَنَا إِسْرَائِيلُ عَنْ مَنْصُورٍ عَنْ خَالِدِ بْنِ سَعْدٍ قَالَ خَرَجْنَا وَمَعَنَا غَالِبُ بْنُ أَبَجْرٍ فَمَرَضَ فِي الطَّرِيقِ فَقَدِمْنَا الْمَدِينَةَ وَهُوَ مَرِيضٌ فَعَادَهُ ابْنُ أَبِي عَتِيقٍ فَقَالَ لَنَا عَلَيْكُمْ بِهَذِهِ الْحَبِيبَةِ السَّوْدَاءِ فَخُذُوا مِنْهَا حَمْسًا أَوْ سَبْعًا فَاسْحَفُوهَا ثُمَّ أَفْطَرُوهَا فِي أَنْفِهِ بِقَطْرَاتِ زَيْتٍ فِي هَذَا الْجَانِبِ وَفِي هَذَا الْجَانِبِ فَإِنَّ عَائِشَةَ حَدَّثَتْنِي أَنَّهَا سَمِعَتْ النَّبِيَّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ إِنَّ هَذِهِ الْحَبَّةَ السَّوْدَاءَ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا مِنْ السَّامِ قُلْتُ وَمَا السَّامُ قَالَ الْمَوْتُ (رواه البخاري)

Telah menceritakan kepada kami Abdullah bin Abi Syaibah telah menceritakan kepada kami Ubaidillah, telah menceritakan kepada kami Israil dari mansur dari Khalid bin sa'din dia berkata kami keluar bersama Ghalib bin Abjar, kemudian dia sakit dalam perjalanan lalu kami datang ke Medinah kemudian dia di jenguk oleh Ibnu Abi Atiq dan dia berkata kepada kami, ia harus mengkosumsi habbatusauda' ini maka ambilah lima atau tujuh butir kemudian seduh dan dicampur beberapa tetes minyak zaitun lalu teteskan ke hidung sebelah kiri dan kanan, Sesungguhnya Aisyah pernah mengatakan kepadaku bahwa ia mendengar Rasulullah bersabda "sesungguhnya habbatusauda' obat untuk setiap penyakit kecuali al-sam, Aisyah bertanya apa itu al-sam rasulullah menjawab kematian (HR. al-Bukhari Juz: 17, no 5255).

Penelitian sebelumnya mengenai efek protektif *Thymoquinone* yang memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih yang diinduksi Rifampisin dengan dosis pemberian 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB (Oktaria et al., 2019), efek perbaikan juga ditemukan pada penelitian yang lain dengan dosis pemberian 0,07 mg/ekor/hari, 0,14 mg/ekor/hari, dan 0,21 mg/ekor/hari dengan lama pemberian 30 hari (Hayah,

2010). Penelitian lain yang dilakukan pada tikus yang di induksi morfin dengan dosis pemberian 4,5 mg/Kg, 9 mg/Kg, dan 18 mg/Kg dapat memberikan efek antioksidan dan anti apoptosis pada ginjal (Jalili et al., 2017), sedangkan pada dosis pemberian 10mg/Kg dapat memberikan efek protektif pada ginjal yang diinduksi vankomisin serta berperan dalam menurunkan stress oksidatif (Basarslan et al., 2012). Habbatussauda dapat menurunkan tekanan darah sistolik pada tikus yang dikaitkan dengan penurunan produk peroksidasi lipid jantung, NADPH oksidase, aktivitas *Angiotensin-Converting Enzyme* (ACE), dan plasma nitrit oksida, serta peningkatan aktivitas *Heme Oxygenase-1* (HO-1) di hepar (Jaarin et al., 2015). Efek yang diberikan oleh habbatussauda setara dengan nikardipin, sehingga habbatussauda bermanfaat untuk menurunkan hipertensi dimana secara teori, mekanisme penurunan tekanan darah oleh habbatussauda belum diketahui, kemungkinan berasal dari beberapa mekanisme, seperti penurunan laju kontraksi miokardium dan hepar sehingga mengaktifkan reseptor muskarinik pada pembuluh darah serta efek *Calcium Channel-Blocking* (CCB) sehingga terdapat penurunan tekanan darah secara signifikan antara tikus yang diberikan habbatussauda dan nicardipin (Jaarin et al., 2015). Penelitian dengan menggunakan kombinasi madu dan habbatussauda yang dilakukan seperti yang dilakukan oleh Alkadri, hanya saja terdapat perbedaan dalam parameter penelitian, yaitu berupa hepatotoksisitas pada tikus akibat sisplatin (Alkadri et al., 2019).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukannya penelitian mengenai pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda selama 21 hari dengan berbagai dosis terhadap kadar ureum pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh kombinasi madu dan habbatussauda terhadap fungsi ginjal yaitu kadar ureum pada tikus yang mengalami penyakit ginjal kronik serta penggunaan dan manfaat dari madu dan habbatussauda sudah tercantum di dalam hadist, sehingga diharapkan hasil dari penelitian tersebut dapat digunakan sebagai pengobatan pada kasus penyakit ginjal kronik yang meningkat setiap tahunnya.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

1.4.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui kadar ureum tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan diberi Irbesartan 13,5 mg/KgBB/hari.

1.3.2.2 Untuk mengetahui kadar ureum tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan diberi kombinasi madu 0,675 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 0,5 ml/Kg.

1.3.2.3 Untuk mengetahui kadar ureum tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan diberi kombinasi madu 1,35 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 1,0 ml/Kg.

1.3.2.4 Untuk mengetahui kadar ureum tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan diberi kombinasi madu 2,7 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 2,0 mL/KgBB.

1.3.2.5 Untuk mengetahui pengaruh dari perbedaan pemberian dosis kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.3 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi ilmiah bagi peneliti berikutnya mengenai pengaruh kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum pada tikus yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

1.4.4 Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda berpotensi sebagai obat alternatif dalam terapi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UOO).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ureum

Ureum merupakan produk akhir katabolisme protein serta asam amino yang diproduksi oleh hepar dan di distribusikan melalui cairan intraseluler dan ekstraseluler ke dalam darah kemudian di filtrasi oleh glomerulus. Kadar ureum dapat digunakan untuk menegakkan diagnosis penyakit ginjal akut. Peningkatan kadar ureum dalam darah disebut dengan azotemia sementara kondisi penyakit ginjal kronik yang ditandai dengan kadar ureum plasma sangat tinggi disebut uremia, adanya peningkatan kadar ureum merupakan tanda adanya kerusakan sel – sel pada ginjal yang berakhir dengan fibrosis dengan penyempitan lapangan filtrasi sehingga terjadi peningkatan kadar ureum, oleh karena itu pengukuran kadar ureum dapat digunakan sebagai bahan evaluasi untuk menilai fungsi ginjal, status hidrasi, mengukur keseimbangan nitrogen, mengukur progresivitas penyakit ginjal kronik, dan menilai hasil tindakan hemodialisis. Berikut nilai rujukan kadar ureum, yaitu (Verdiansah, 2016):

Tabel 2. 1 Nilai rujukan kadar ureum (Verdiansah, 2016)

Specimen	Rujukan	
Plasma atau Serum	6-20 mg/dL	(2,1-7,1 mmol urea/hari)
Urin 24 jam	12-20 g/hari	(0,43-0,71 mmol urea/hari)

Beberapa keadaan yang dapat mempengaruhi kadar ureum, antara lain (Verdiansah, 2016):

**Tabel 2. 2 Keadaan yang dapat mempengaruhi kadar ureum
(Verdiansah, 2016)**

Peningkatan Konsentrasi	
Pra-renal	Gagal jantung kongestif, syok, perdarahan, dehidrasi, peningkatan katabolisme protein, diet tinggi protein
Renal	Penyakit ginjal akut dan kronik, penyakit renal (glomerulonephritis, nekrosis tubuler)
Pasca-renal	Obstruksi saluran kemih
Penurunan Konsentrasi	
Asupan rendah protein, muntah dan diare berat, penyakit hati, kehamilan	

Penyakit ginjal akut atau kronis dapat mengakibatkan penurunan fungsi ginjal sehingga dapat menyebabkan peningkatan kadar urea plasma karena ekskresi urea dalam urin menurun.

2.2 Penyakit Ginjal Kronik

2.1.1 Definisi Penyakit Ginjal Kronik

Penyakit ginjal kronik merupakan kumpulan dari suatu patofisiologi dengan berbagai macam etiologi yang berakibat pada penurunan fungsi ginjal yang cukup progresif dan berakhir pada sindrom klinis yang ditandai dengan penurunan fungsi ginjal ireversibel yang disebut dengan penyakit ginjal kronik (Suwitra, 2019). Penderita penyakit ginjal kronik umumnya akan membutuhkan perawatan serta terapi, antara lain terapi pengganti ginjal yang tetap berupa dialysis atau tranplantasi ginjal.

Kriteria penyakit ginjal kronik antara lain (Suwitra, 2019):

1. Kerusakan ginjal (*renal damage*) lebih dari 3 bulan baik kelainan struktural atau fungsional, dengan atau tanpa

penurunan laju filtrasi glomerulus (LFG) yang disertai manifestasi :

- a. Kelainan patologis
- b. Terdapat tanda kelainan ginjal berupa kelainan dalam komposisi darah atau urin, atau kelainan dalam radiologi (*imaging test*)

2. Laju filtrasi glomerulus (LFG) $<60\text{ml}/\text{menit}/1,73\text{ m}^2$ dalam 3 bulan dengan atau tanpa kerusakan ginjal.

2.1.2 Etiologi pada Penyakit Ginjal Kronik

Etiologi penyakit ginjal kronik sangat beragam, antara lain : diabetes mellitus baik tipe 1 maupun 2, hipertensi dan penyakit pembuluh darah besar, glomerulonephritis, nefritis interstisialis, kista dan penyakit bawaan lain, penyakit sistemik seperti lupus dan vasculitis, serta neoplasma, sementara pada beberapa kasus didapatkan karena penyakit lain atau idiopatik (Depkes, 2017).

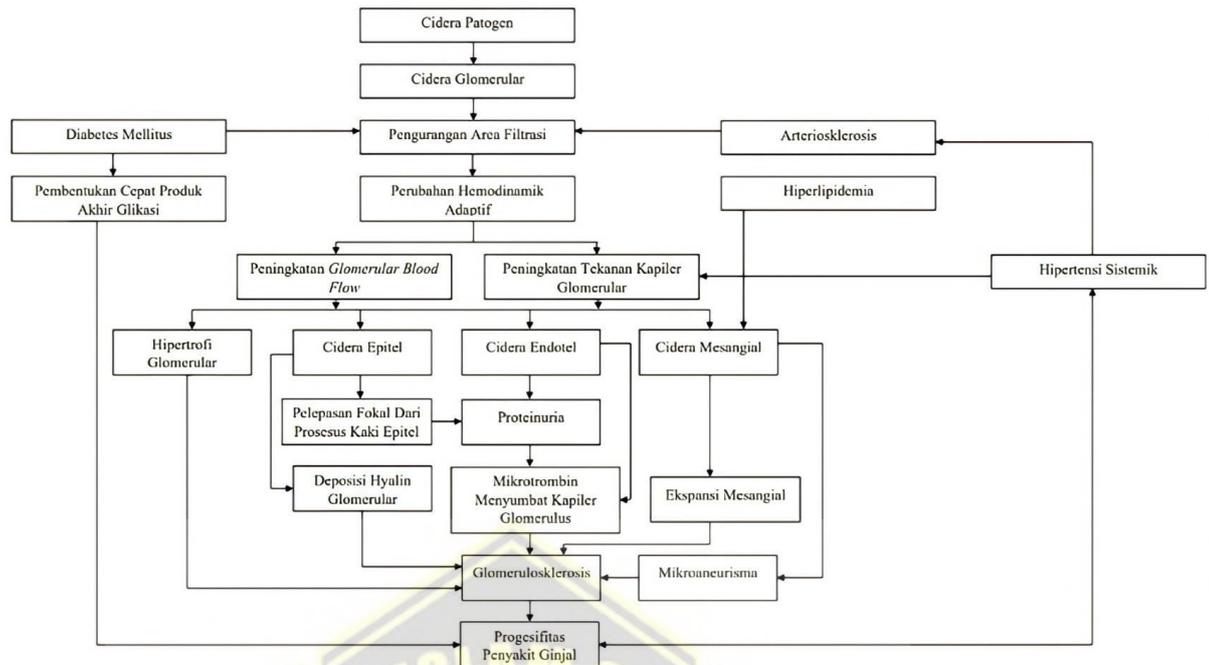
2.1.3 Patofisiologi dan Patogenesis Penyakit Ginjal Kronik

Awal terjadinya penyakit ginjal kronik berdasarkan etiologi yang mendasarinya yang kemudian akan berkembang dengan proses yang kurang lebih sama. Adanya pengurangan dari massa ginjal akan mengakibatkan hipertrofi struktural dan fungsional nefron yang tersisa (*surviving nephrons*) sebagai upaya kompensasi dengan diperantarai molekul vasoaktif (sitokin dan *growth factors*), sehingga akan mengakibatkan hiperfiltrasi yang kemudian terjadi

peningkatan tekanan kapiler dan aliran darah glomerulus (Suwitra, 2019). Obstruksi saluran kemih yang terjadi baik di proksimal maupun distal dapat disertai inflamasi dan infeksi, meskipun pada beberapa kasus tidak menunjukkan tanda-tanda adanya infeksi (Arifianto et al., 2020), sehingga hal tersebut akan mempengaruhi progresivitas dari penyakit.

Faktor progresivitas dari penurunan fungsi ginjal yang cepat yaitu dimulai setelah ginjal mengalami kerusakan. Hal tersebut dapat terjadi pada penderita diabetes, hipertensi, proteinuria, hiperlipidemia, obesitas, serta merokok. Sebagian besar nefropati yang progresif berakhir pada kerusakan parenkim ginjal yang bersifat ireversibel dan *End Stage Renal Disease* (ESRD). Perjalanan tersebut disertai dengan pengurangan massa nephron, hipertensi kapiler glomerular, serta proteinuria (Dipiro J et al., 2015).





Gambar 2. 1 Patofisiologi Penyakit Ginjal Kronik (Dipiro J et al., 2015)

2.1.4 Klasifikasi Penyakit Ginjal Kronik

Klasifikasi dari penyakit ginjal kronik dibagi menjadi dua kelompok, antara lain berdasarkan derajat (*stage*) penyakit dan berdasarkan diagnosis etiologi. Klasifikasi berdasarkan derajat penyakit ditentukan oleh perhitungan rumus *Kockcroft-Gault* (Suwitra, 2019).

$$\text{LFG (ml/menit/1,73m}^2) = \frac{(140 - \text{umur}) \times \text{berat badan}}{72 \times \text{kreatinin plasma (}^{\text{mg}}/\text{dl)}}$$

*)pada perempuan dikalikan 0,85

Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan derajat penyakit, antara lain (Suwitra, 2019):

Tabel 2. 3 Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan derajat penyakitnya (Suwitra, 2019)

Derajat	Keterangan	LFG (ml/menit/1,73m ²)
1	Kerusakan ginjal dengan LFG normal atau ↑	≥ 90
2	Kerusakan ginjal dengan LFG ↑ ringan	60 – 89
3	Kerusakan ginjal dengan LFG ↑ sedang	30 – 59
4	Kerusakan ginjal dengan LFG ↑ berat	15 – 29
5	Penyakit ginjal kronik	< 15 atau dialisis

Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi, antara lain (Suwitra, 2019):

Tabel 2. 4 Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi (Suwitra, 2019)

Penyakit	Tipe Mayor (contoh)
Penyakit ginjal diabetes	Diabetes tipe 1 dan 2
Penyakit ginjal non diabetes	<ol style="list-style-type: none"> 1. Penyakit glomerular (penyakit autoimun, infeksi sistemik, obat, neoplasia) 2. Penyakit vascular (penyakit pembuluh darah besar, hipertensi, mikroangiopati) 3. Penyakit tubulointerstitial (pielonefritis kronik, batu, obstruksi, keracunan obat) 4. Penyakit kistik (ginjal polikistik)
Penyakit pada transplantasi	<ol style="list-style-type: none"> 1. Rejeksi kronik 2. Keracunan obat (siklosporin/tacrolimus) 3. Penyakit reccurent (glomerular) 4. Transplant glomerulopathy

2.3 Madu

Madu merupakan bahan alami yang dihasilkan oleh lebah yang memiliki kandungan serta nilai gizi yang tinggi. Madu dapat bermanfaat sebagai obat, bahan pengawet alami, bahan pemanis alami. Kandungan madu

yang kaya akan mineral, vitamin, zat flavonoid, asam fenolat, asam phenolic, serta zat aktif lain berfungsi sebagai antioksidan yang berperan dalam mencegah kerusakan ginjal. Antioksidan phenolic yang dimiliki madu efektif dalam melawan stress oksidatif untuk meningkatkan sistem pertahanan tubuh (Asfur & Sadewo, 2019), sehingga dengan berbagai macam zat yang terkandung di dalam madu, maka madu dijadikan sebagai bahan obat alami, hal tersebut tertuang dalam hadist berikut (Yeni MDalil, 2016) :

حَدَّثَنِي مُحَمَّدُ بْنُ عَبْدِ الرَّحِيمِ أَخْبَرَنَا سُرَيْجُ بْنُ يُونُسَ أَبُو الْحَارِثِ حَدَّثَنَا مَرْوَانُ بْنُ شُجَاعٍ عَنْ
سَالِمِ الْأَفْطَسِ عَنْ سَعِيدِ بْنِ جُبَيْرٍ عَنْ ابْنِ عَبَّاسٍ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ الشِّفَاءُ فِي
ثَلَاثَةٍ فِي شَرْطَةِ مَحْجَمٍ أَوْ شَرْبَةِ عَسَلٍ أَوْ كَيْتَةِ بِنَارٍ وَأَنَا أَنْهَى أُمَّتِي عَنِ الْكَيِّْ (رواه البخاري)

Telah disampaikan oleh Muhammad bin Abdirrahman, diberitakan kepada kami oleh Suraij bin Yunus Anu al-Harits disampaikan kepada kami oleh Marwan bin S dari Syuja' dari Salim al-Aqthas dari Said bin Jabir dari Ibnu Abbas dari Nabi Saw bersabda: "Kesembuhan itu terdapat dalam tiga hal; sayatan pisau bekam, meminum madu dan sengatan api, akan tetapi aku melarang mumatku melakukan sengatan api. (HR Bukhari Juz; 17, no 5248, HR. Bukhari, Muslim, Imam Ahmad, Abu Syaibah, Al-Baihaqi, Tabrani, al-Nasa'i dan nal-Thabari).

Firman Allah terkait dengan khasiat madu sebagai bahan obat alami sesuai anjuran Islam yaitu (Yeni MDalil, 2016) :

ثُمَّ كُلِي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بَطُونِهَا
شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ

Kemudian makanlah dari tiap-tiap (macam) buah-buahan dan tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu ke luar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar - benar terdapat tanda (kebesaran Tuhan) bagi orang - orang yang memikirkan (Q.S An-Nahl: 69).

Vitamin yang dikandung oleh madu, diantaranya vitamin A, B1, B2, B3, B5, B6, C, D, E, K, beta karoten, flavonoid, asam phenolic, asam urat, dan asam nikotinat. Mineral dan garam atau zat lain yang dikandung oleh madu antara lain, zat besi, sulfur, magnesium, kalsium, kalium, khlor, natrium, fosfor, sodium, antibiotik, serta enzim pencernaan. Madu juga memiliki beberapa komposisi zat penyusunnya, diantaranya air (17,1%), karbohidrat (82,4%), protein (0,5%), asam amino, vitamin dan mineral, dimana karbohidrat yang terkandung adalah karbohidrat sederhana yaitu fruktosa (38,5%) dan glukosa (31%). Kandungan fruktosa tersebut dapat mempercepat proses oksidasi alkohol sehingga dapat melawan stress oksidatif (Parwata et al., 2010).

Penelitian yang dilakukan Parwata (2010) mengenai aktivitas antiradikal bebas serta kadar beta karoten pada dua jenis madu yang berbeda yaitu, madu randu (*Ceiba pentandra*) dan madu kelengkeng (*Nephelium longata l.*) dengan dosis pemberian masing-masing jenis madu adalah 0,08 gram madu dan tiga kelompok uji untuk setiap jenis madu, membuktikan bahwa madu memiliki aktivitas antiradikal bebas dan kadar beta karoten yang

berbeda pada kedua jenis madu tersebut, dimana aktivitas antiradikal bebas madu kelengkeng lebih besar (82,10%) daripada madu randu (69,37%), sementara kadar beta karoten pada madu kelengkeng lebih kecil (1,9687 mg//100 g) daripada madu randu (3,6327 mg/100 g) (Parwata et al., 2010). Pemberian madu kelengkeng dapat meningkatkan kadar SOD (Yuniastuti et al., 2015), meningkatkan kadar TSA (Kamilatussaniah et al., 2016), dan menurunkan kadar MDA (Kamilatussaniah et al., 2016) secara signifikan pada tikus yang diinduksi timbal, sehingga zat-zat yang terkandung dalam madu kelengkeng dapat memperkuat fungsi ginjal. Penelitian mengenai pengaruh pemberian madu terhadap fungsi ginjal berupa ureum dan kreatinin yang diinduksi tuak dengan dosis pemberian madu 1,35 mL/tikus/hari pada kelompok perlakuan selama 15 hari, membuktikan bahwa pemberian madu dapat menurunkan kadar fungsi ginjal berupa ureum dan kreatinin yang meningkat akibat pemberian tuak (Asfur & Sadewo, 2019). Penelitian lain dengan pemberian ekstrak etanol yang terkandung pada madu dalam bentuk *honeycomb* sebanyak 500 mg/KgBB dan 750 mg/KgBB dapat memberikan efek antioksidan dan efek protektif terhadap nefrotoksisitas pada darah yang di induksi alumunium (Bakour et al., 2017).

Madu yang digunakan sebagai sampel penelitian adalah madu multiflora, yaitu madu yang berasal dari nektar yang bersumber lebih dari satu jenis bunga (Istiani, 2018), sehingga kandungan serta manfaat madu multiflora lebih tinggi dibandingkan jenis madu yang lain karena madu

multifora memiliki konsentrasi yang tinggi pada semua senyawa secara keseluruhan.

2.4 Habbatussauda

Habbatussauda atau jintan hitam merupakan tanaman obat yang memiliki nama latin *Nigella sativa L.* yang banyak digunakan di Asia. Biji habbatussauda mengandung senyawa bioaktif *thymoquinone* sebagai antioksidan serta asam lemak tak jenuh rantai ganda (PUFA) sebagai bahan pembentukan membran (Alkadri et al., 2019), sehingga dengan berbagai kandungan yang terdapat di dalam habbatussauda yang sangat bermanfaat, habbatussauda dijadikan sebagai obat dari segala macam penyakit kecuali kematian, seperti yang tertuang dalam hadist (Yeni MDalil, 2016) :

حَدَّثَنَا عَبْدُ اللَّهِ بْنُ أَبِي شَيْبَةَ حَدَّثَنَا عُبَيْدُ اللَّهِ حَدَّثَنَا إِسْرَائِيلُ عَنْ مَنْصُورٍ عَنْ خَالِدِ بْنِ سَعْدٍ قَالَ خَرَجْنَا وَمَعَنَا غَالِبُ بْنُ أَبَجْرٍ فَمَرَضَ فِي الطَّرِيقِ فَقَدِمْنَا الْمَدِينَةَ وَهُوَ مَرِيضٌ فَعَادَهُ ابْنُ أَبِي عَتِيقٍ فَقَالَ لَنَا عَلَيْكُمْ بِهَذِهِ الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ فَخُذُوا مِنْهَا حَمْسًا أَوْ سَبْعًا فَاسْحُقُوهَا ثُمَّ أَقْطِرُوهَا فِي أَنْفِهِ بِقَطْرَاتٍ زَيْتٍ فِي هَذَا الْجَانِبِ وَفِي هَذَا الْجَانِبِ فَإِنَّ عَائِشَةَ حَدَّثَتْنِي أَنَّهَا سَمِعَتْ النَّبِيَّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ إِنَّ هَذِهِ الْحَبَّةَ السَّوْدَاءَ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا مِنَ السَّامِ قُلْتُ وَمَا السَّامُ قَالَ الْمَوْتُ (رواه البخاري)

Telah menceritakan kepada kami Abdullah bin Abi Syaibah telah menceritakan kepada kami Ubaidillah, telah menceritakan kepada kami Israil dari mansur dari Khalid bin sa'din dia berkata kami keluar bersama Ghalib bin Abjar, kemudian dia sakit dalam perjalanan lalu kami datang ke Medinah kemudian dia di jenguk oleh Ibnu Abi Atiq dan dia berkata kepada kami, ia harus mengkosumsi habbatussauda' ini maka ambilah lima atau tujuh butir kemudian seduh dan dicampur beberapa tetes minyak zaitun lalu

teteskan ke hidung sebelah kiri dan kanan, Sesungguhnya Aisyah pernah mengatakan kepadaku bahwa ia mendengar Rasulullah bersabda “sesungguhnya habbatusauda’ obat untuk setiap penyakit kecuali al-sam, Aisyah bertanya apa itu al-sam rasulullah menjawab kematian (HR. al-Bukhari Juz: 17, no 5255).

Thymoquinone yang dikandung habbatussauda memiliki kemungkinan mekanisme berupa menghambat produksi angiotensin II sehingga dapat mencegah stress oksidatif (Martínez-Klimova et al., 2019). Pada ginjal yang dilakukan *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) yang diterapi dengan penggunaan senyawa *thymoquinone* akan mempunyai kandungan total renal thiol yang lebih tinggi, aktivitas superoksida dismutase dan katalase yang lebih tinggi, serta penurunan apoptosis dibandingkan ginjal yang tidak dilakukan terapi. Kadar protein TNF- α , angiotensin II, dan MCP-1 akan menurun pada kelompok UUO yang diberikan terapi, hal tersebut memungkinkan mekanisme *thymoquinone* yang dapat mencegah stress oksidatif (Martínez-Klimova et al., 2019).

Efek antioksidan yang terkandung dalam habbatussauda juga memiliki efek anti hipertensi, dimana *Thymoquinone* yang terkandung memiliki aktivitas antioksidan, mekanisme diuretic, efek antiinflamasi, dan efek renoprotektif. Terapi habbatussauda yang diberikan dapat mencegah penurunan plasma NO dengan mekanisme yang masih belum jelas, hal tersebut dikaitkan dengan tingginya kadar antioksidan habbatussauda, sehingga dapat mencegah stres oksidatif, inflamasi, dan disfungsi endotel

(Jaarin et al., 2015). Efek dari habbatussauda juga setara dengan nicardipin yaitu dengan mekanisme CCB dimana pada nikardipin tidak memiliki efek terhadap HO-1 dan mencegah penurunan plasma NO, dimana aktivasi dari HO-1 akan menurunkan inflamasi yang diinduksi Angiotensin II dan stres oksidatif yang diperantai NADHP-oksidadase melalui produksi anion superoksida serta efek antihipertensi yang diproduksi oleh CO sebagai vasodilator (Jaarin et al., 2015), sehingga penelitian dengan pemberian 2,5 mg/KgBB dapat mengurangi status reduksi jantung, mengurangi aktivitas ACE-I dan meningkatkan aktivitas HO-1 serta mencegah penurunan plasma NO, sehingga efek menurunkan tekanan darah akan setara dengan nikardipin (Jaarin et al., 2015).

Penelitian yang dilakukan mengenai efek protektif *Thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal yang diinduksi rifampisin pada kelompok uji yang diberikan rifampisin 100 mg/100 gBB dan *Thymoquinone* dosis 5 mg/KgBB, 10 mg/KgBB dan 20 mg/KgBB, menunjukkan bahwa *Thymoquinone* memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal yang diinduksi rifampisin (Oktaria et al., 2019), sementara pada pemberian dosis 4,5 mg/Kg, 9 mg/Kg, dan 18 mg/Kg pada tikus yang diinduksi morfin dapat memberikan efek antioksidan dan anti apoptosis pada ginjal (Jalili et al., 2017). Penelitian lain mengenai efek *Thymoquinone* dengan dosis pemberian 10 mg/Kg pada tikus dapat memberikan efek protektif terhadap nefrotoksisitas yang disebabkan oleh vankomisin serta berperan dalam menurunkan stress oksidatif (Basarslan et al., 2012).

2.5 Irbesartan

Irbesartan merupakan obat anti hipertensi golongan penyekat reseptor angiotensin atau *Angiotensin Reseptor Blocker* (ARB) yang memiliki mekanisme kerja dengan cara memblokir reseptor Angiotensin II sehingga menyebabkan vasodilatasi, peningkatan ekskresi Na dan cairan sehingga dapat mengurangi volume plasma, menurunkan hipertrofi vaskular. Anti hipertensi golongan ini tidak memiliki efek terhadap metabolisme bradikinin sehingga ARB adalah obat penghambat reseptor angiotensin yang lebih selektif terhadap angiotensin daripada golongan *Angiotensin Converting Enzym Inhibitor* (ACE-I), selain itu potensi dalam menghambat kerja angiotensin lebih menyeluruh dibandingkan ACE-I karena adanya enzim lain selain Angiotensin Converting Enzym (ACE) yang dapat menghasilkan Angiotensin II. ARB akan memiliki efek yang serupa dengan golongan ACE-I pada pasien dengan penyakit ginjal kronik dengan cara mengurangi proteinuria dan menstabilkan fungsi ginjal (bahkan tanpa adanya penurunan tekanan darah), hal tersebut disebabkan oleh adanya perbaikan hemodinamik intrarenal, dengan penurunan resistensi arteriol eferen glomeruli, dan penurunan tekanan kapiler intraglomeruli sebagai hasil (Benowitz, 2007).

Angiotensinogen akan diubah oleh Renin menjadi Angiotensin I yang kemudian akan dirubah menjadi Angiotensin II oleh ACE. Mekanisme kerja dari anti hipertensi golongan ARB adalah menyekat dari reseptor Angiotensin II, sehingga akan terjadi vasodilatasi yang menyebabkan penurunan tahanan vaskuler perifer dan penurunan retensi natrium dan air sehingga terjadi

penurunan tekanan darah. Dosis penggunaan irbesartan pada pasien hipertensi yaitu 150 mg dengan pemberian satu kali sehari untuk dosis awal, dan dapat ditingkatkan hingga 300 mg dengan pemberian satu kali sehari. Obat anti hipertensi golongan ARB menjadi terapi pertama pada kondisi hipertensi seperti gagal jantung, pasca infark miokardial, resiko tinggi penyakit koroner, diabetes mellitus, penyakit ginjal kronik, pencegahan serangan stroke berulang dengan efek samping yang lebih ringan dari anti hipertensi lainnya. Irbesartan memiliki kelarutan yang rendah, permeabilitas tinggi, dan bioavailabilitas oral yang kecil. Pada keadaan gangguan fungsi endotel, maka terjadi ketidakseimbangan substansi vasodilatasi dan vasokonstriksi sehingga menyebabkan hipertensi dan komponen penting yang berperan pada relaksasi vascular adalah NO yang dikenal sebagai *endothelium-derived relaxing factors* (EDRF) yang berperan untuk menjaga homeostasis vaskular (Harmely et al., 2018).

Irbesartan memiliki efek renoprotektif yang kuat selain efek penurunan tekanan darah dimana irbesartan secara signifikan akan meningkatkan ekspresi protein HGF di ginjal. Peningkatan tersebut disebabkan oleh aktivasi PPAR γ dan blokade AT1R bebas. Pada terapi infus aldosteron dan NaCl 1% selama satu bulan secara signifikan akan meningkatkan fibrosis ginjal, sehingga terapi irbesartan secara signifikan akan mengurangi fibrosis pada ginjal melalui antifibrotic yang terkandung dalam irbesartan dengan jalur PPAR γ – HGF dan blokade AT1R bebas (Kusunoki et al., 2013). Aldosteron tidak hanya menyebabkan fibrosis

interstitial, tetapi juga perluasan mesangial di glomerulus dan fibrosis di sekitar glomerulus, sehingga terapi irbesartan dapat mengurangi ekspresi TGF- β 1 di area tubukointerstitial ginjal (Kusunoki et al., 2013). Adanya infiltrasi makrofag dan EMT di jaringan interstitial ginjal oleh aldosteron akan merangsang sel – sel inflamasi seperti makrofag yang berperan dalam fibrosis ginjal dan stress oksidatif melalui aktivasi dari reseptor mineralokortikoid dan terapi irbesartan dapat mengurangi infiltrasi makrofag dan mengurangi area myofibroblas (Kusunoki et al., 2013). Irbesartan secara signifikan juga menekan persinyalan redoks sehingga dapat menurunkan stress oksidatif dan peradangan yang di mediasi aldosteron. Dari penjelasan tersebut, irbesartan dapat menjadi renoprotektif melalui blokade reseptor Angiotensin II yang disebabkan oleh inhibisi dari inflamasi dan EMT serta penurunan stress oksidatif yang disebabkan oleh ekspresi HGF lokal yang diinduksi oleh PPAR γ (Kusunoki et al., 2013).

Pada pasien dengan hemodialisis atau usia lanjut (>75 tahun), dapat diberikan dosis awal 75 mg/hari. Pada pasien hipertensi dengan diabetes mellitus tipe II, dapat diberikan dosis awal 150 mg dengan pemberian satu kali sehari dan dapat ditingkatkan hingga 300 mg dengan pemberian satu kali sehari sebagai dosis penunjang pengobatan penyakit ginjal (BPOM, 2021). Indikasi penggunaan irbesartan antara lain hipertensi, untuk menurunkan albuminuria makro dan mikro pada pasien hipertensi dengan diabetes mellitus tipe II. Kontraindikasi penggunaan irbesartan antara lain kehamilan, menyusui, stenosis arteri renalis bilateral atau stenosis pada satu-satunya

ginjal yang masih berfungsi (Benowitz, 2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya pada tikus putih jantan dengan berat 200 gram, dosis irbesartan yang diberikan sebesar 2,7 mg atau setara dengan 13,5 mg/KgBB (Harmely et al., 2018).

2.6 Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)

Unilateral Ureteral Obstruction (UUO) merupakan model fibrosis tubulointerstitial ginjal yang baik karena tidak adanya toksik eksogen, minimalisasi lingkungan uremik, serta kemampuan untuk menggunakan ginjal kontralateral sebagai kontrol dengan ciri khas dari model UUO tersebut adalah pembentukan myofibroblast yang menyebabkan fibrosis ginjal dengan beberapa sel yang berkontribusi didalamnya, antara lain sel epitel melalui *transisi epitelial-mesenkimal* (EMT), sel yang berasal dari derivat sumsum tulang, sel endotel, perisit atau fibroblast perivascular, fibroblast ekstrarenal (Arfian et al., 2016). Ureter yang dilakukan ligase pada UUO, akan mengalami beberapa fase, dimana pada fase akut ginjal masih dapat berfungsi dengan baik dan belum terjadi azotemia dan perubahan degenerative pada ginjal berupa kongesti dan inflamasi glomerulus akan dimulai pada hari ketiga dan ketujuh setelah dilakukan UUO dan mulai terjadi peningkatan kadar ureum. Pada obstruksi awal, adanya respon hemodinamik renin-angiotensin II dapat memicu peningkatan vaskularisasi menuju ginjal dan disaat yang bersamaan GFR akan meningkat sehingga proses ekskresi urea masih bisa dipertahankan dalam kadar yang normal. Pada saat fase kronik dimulai, maka mulai terjadinya penurunan jumlah glomerulus yang aktif

disertai atrofi tubulus dan fibrosis interstitial, hal tersebut akan menyebabkan penurunan fungsi filtrasi ginjal dan ureum tidak dapat disaring dengan benar oleh ginjal sehingga dibawa kembali ke dalam darah dan menyebabkan peningkatan kadar ureum, dimana pada saat terjadi peningkatan kadar ureum, maka ginjal telah kehilangan 60 – 70% dari jumlah glomerulus yang tersedia (Arifianto et al., 2020). Kelainan profil darah tidak akan terdeteksi selama nefron berfungsi dengan baik dan dapat mengkompensasi kerusakan nefron lainnya, hal tersebut akan berbanding terbalik jika terjadi kerusakan nefron yang mencapai 66% maka ginjal akan kehilangan fungsi pemekatan urin dan pada saat kehilangan sebanyak 75% maka akan muncul azotemia (Arifianto et al., 2020). UUO akan menginduksi fibrosis interstitial dan cedera tubular yang diikuti dengan peningkatan kadar kreatinin serum sehingga terjadi gangguan pada arsitektur ginjal yang disebabkan oleh fibrosis yang akan meningkatkan jumlah sel epitel apoptosis, dimana hal tersebut dikaitkan dengan peningkatan regulasi ekspresi mediator inflamasi seperti *Intercellular Adhesion Molecule-1* (ICAM-1), *Monocyte Chemoattractant Protein 1* (MCP-1), dan *Toll-Like Receptor 4* (TLR-4) dan berperan dalam mekanisme kerusakan ginjal pada fibrosis ginjal (Arfian et al., 2016).

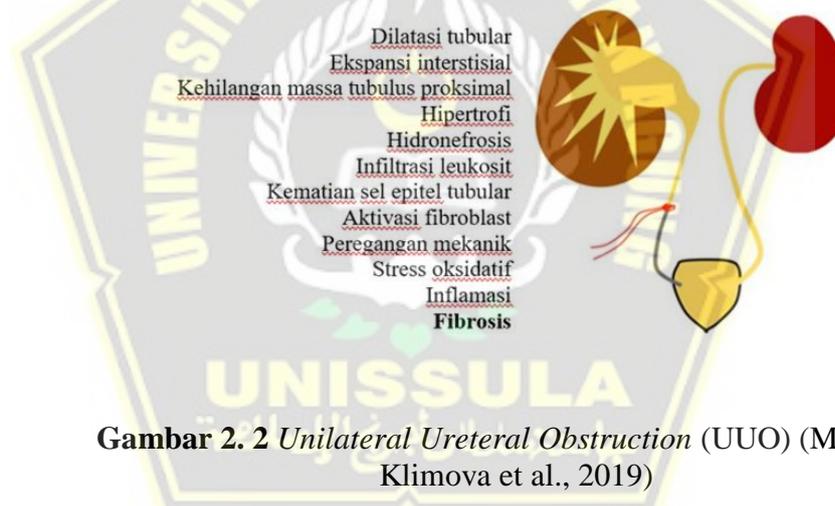
Secara umum, ginjal yang mengalami obstruksi akan diikuti dengan infeksi dan inflamasi, tetapi pada UUO, ginjal yang mengalami obstruksi yang telah melalui fibrosis interstitial dan apoptosis sel tubular karena obstruksi tidak disertai dengan infeksi, tetapi proses terjadinya fibrosis ginjal terjadi secara progresif (Arifianto et al., 2020). Ginjal yang obstruksi

dikarenakan UUO akan mengalami dilatasi tubular, ekspansi interstitial, hilangnya massa tubular proksimal, hipertrofi, hidronefrosis, infiltrasi leukosit, apoptosis sel epitel tubular, serta adanya fibroblast yang merupakan hasil dari proses molekuler seperti perubahan hemodinamik oleh peregangan mekanik, apoptosis epitel sel tubular, stress oksidatif, inflamasi yang keseluruhan dapat menyebabkan fibrosis tubulointerstitial ginjal yang progresif (Martínez-Klimova et al., 2019).

UUO akan menyebabkan urin stasis sehingga akan meningkatkan tekanan hidrostatis dan akan melebarkan duktus kolektivus, sementara peningkatan tekanan juga terjadi pada tubulus kontortus proksimal dan tubulus kontortus distal. Peningkatan tekanan pada tubulus kontortus proksimal akan menyebabkan penurunan *Glomerular Filtration Rate* (GFR) dan kerusakan peregangan mekanik pada sel epitel tubular. UUO pada tahap awal akan meningkatkan *Renal Blood Flow* (RBF) selama 1-2 jam kemudian akan terjadi penurunan RBF secara progresif serta peningkatan vasokonstriksi yang akan menyebabkan iskemik. Pengaruh dari *Renin-Angiotensin-Aldosteron System* (RAAS) serta *Endotelin-1* (ET-1) selain itu akan menyebabkan vasokonstriksi juga akan menyebabkan apoptosis sel epitel tubular, respon inflamasi, stress oksidatif, dan fibrosis (Martínez-Klimova et al., 2019).

RAAS akan menginduksi peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) oleh *NAD(P)H oxidase* (Nox) dan supresi *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) serta merangsang produksi faktor yang dapat memicu

migrasi leukosit dan inflamasi seperti *Transforming Growth Factor β 1* (TGF- β 1), *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α), *Monocyte Chemoattractant Protein 1* (MCP-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* (VCAM-1), *Nuclear Factor-kappaB* (NF-kB) (Martínez-Klimova et al., 2019). UUU juga akan menurunkan sistem antioksidan, kadar superoksida dismutase dan katalase. Inflamasi yang dihasilkan dari UUU merupakan konsekuensi atau hasil dari stress oksidatif, aktivasi RAAS, serta stimulasi sitokin. Inflamasi akan memicu faktor transkripsi NF-kB untuk berpindah ke nukleus sehingga akan menyebabkan transkripsi gen target dan akan menyebabkan inflamasi dan fibrosis (Martínez-Klimova et al., 2019).



Gambar 2. 2 *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)* (Martínez-Klimova et al., 2019)

Penelitian yang telah dilakukan pada tikus, menunjukkan bahwa UUO secara signifikan dapat meningkatkan fibrosis dan tekanan darah sistolik, dimana tekanan darah sistolik dapat dijumpai secara signifikan pada satu minggu pertama setelah ligase, sehingga dapat menjelaskan bahwa adanya peningkatan mediator pro-inflamasi dan penurunan sitokin anti-inflamasi dapat menyebabkan meningkatkan tekanan darah (Susanto et al., 2019). ROS

merupakan media yang menyebabkan terjadinya hipertensi melalui jalur angiotensin II, sementara patofisiologi terjadinya hipertensi sangat rumit termasuk inflamasi, remodeling, kalsifikasi, dan atherosklerosis. Stres oksidatif yang dihasilkan karena kelebihan ROS, dapat menurunkan kadar NO dan mengurangi kemampuan antioksidan di ginjal (Susanto et al., 2019). Pada kondisi fisiologis, ROS akan meregulasi proses seluler seperti diferensiasi, proliferasi, apoptosis, siklus-siklus, dan migrasi sel, sehingga peningkatan produksi ROS atau melemahnya mekanisme pertahanan antioksidan dapat menyebabkan disfungsi endotel dan sel otot polos yang menyebabkan kegagalan organ secara progresif. Peningkatan tekanan darah sistolik pada tikus menunjukkan kerusakan yang berat yang diakibatkan oleh stres oksidatif karena UOU (Susanto et al., 2019).

2.7 Kombinasi Madu dan Habbatussauda terhadap Penyakit Ginjal Kronik

Madu mengandung vitamin A, B1, B2, B3, B5, B6, C, D, E, K, beta karoten, flavonoid, asam fenolik, asam urat, dan asam nikotinat, serta garam, mineral, atau zat lain seperti zat besi, sulfur, magnesium, kalsium, kalium, khlor, natrium, fosfor, dan sodium sebagai antioksidan alami. Madu juga mengandung karbohidrat sederhana seperti glukosa dan fruktosa, dimana fruktosa dapat mempercepat proses oksidasi. Mineral yang terkandung dalam madu berfungsi untuk menjaga tubuh agar tetap segar, sementara vitamin C, A, E, asam organik, asam fenolik, flavonoid, serta beta karoten berfungsi sebagai antioksidan yang akan bekerjasama untuk melindungi sel normal dalam menetralkan radikal bebas. Beta karoten yang terkandung dalam madu

akan meredam radikal bebas terutama radikal singlet oksigen (Parwata et al., 2010). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa pemberian madu selama 15 hari pada tikus yang diinduksi tuak dapat menurunkan rata-rata kadar kreatinin sebesar 7 mg/dl (Asfur & Sadewo, 2019).

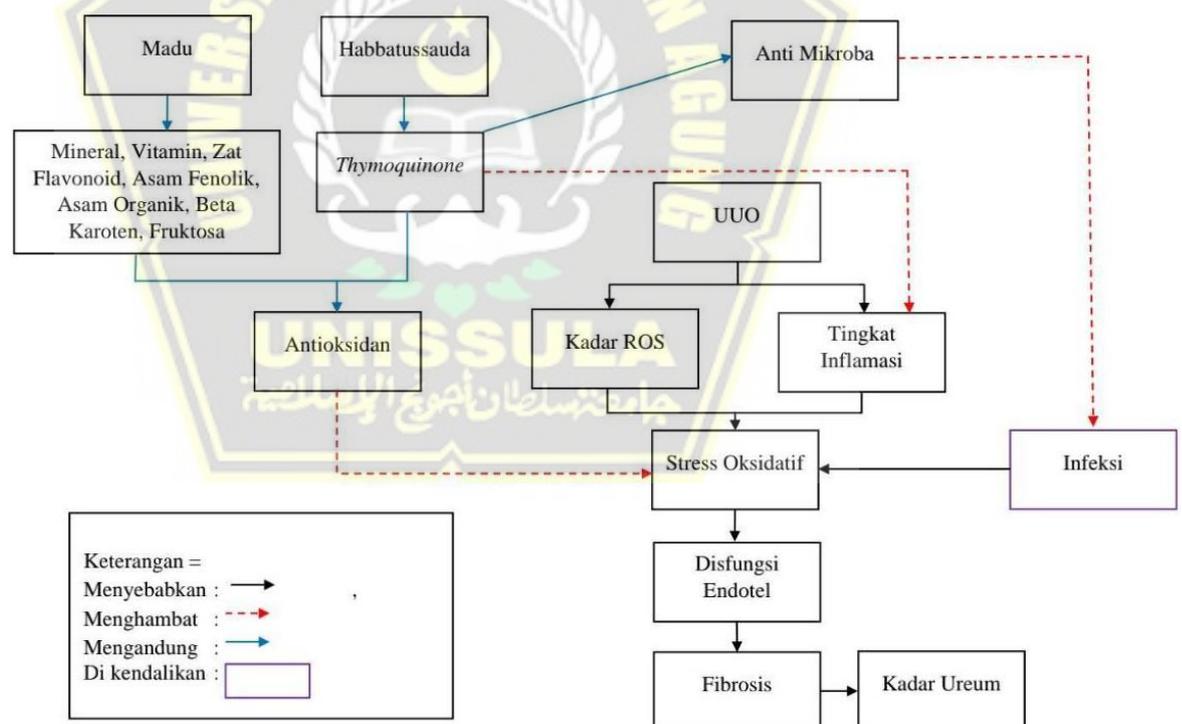
Habbatussauda memiliki kandungan *Thymoquinone* yang akan menghambat mekanisme produksi angiotensin II sehingga dapat mencegah stress oksidatif, sehingga ginjal yang dilakukan *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) akan memiliki kandungan total renal thiol yang lebih tinggi, aktivitas superoksida dismutase dan katalase yang lebih tinggi, dan penurunan apoptosis, serta penurunan kadar protein TNF- α , angiotensin II, dan MCP-1, hal tersebut selaras dengan diskusi yang dilakukan Martínez-Klimova (2019) tentang *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) sebagai model penelitian dalam mencari tatalaksana pada fibrosis ginjal dalam jurnal review, bahwa UUO yang dilakukan pengobatan salah satunya dengan *Thymoquinone* terjadi penurunan stress oksidatif yang bermakna (Martínez-Klimova et al., 2019).

Kombinasi antara madu dengan habbatussauda akan meningkatkan efek antioksidan 3-4 kali lipat yang terkandung, sehingga memiliki efek protektif yang lebih besar ketika kedua bahan tersebut dikombinasikan dengan dosis pemberian madu 3,7 ml/KgBB dan 7,4 ml/KgBB, sementara dosis pemberian minyak habbatussauda 1 ml/KgBB dan 2 ml/KgBB (Alkadri et al., 2019), oleh karena itu digunakan dosis pemberian *Thymoquinone* 1 ml/KgBB (Alkadri et al., 2019) dan dosis madu 1,35 mL/tikus/hari (Asfur &

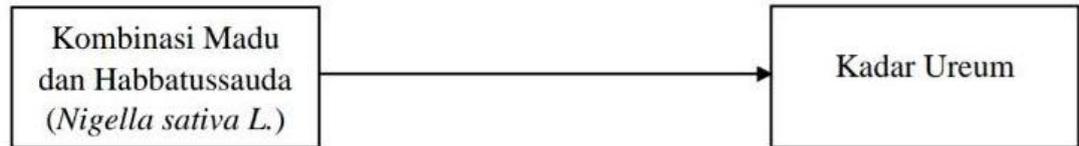
Sadewo, 2019) sebagai acuan penentuan dosis dengan menggunakan metode *half dose and double dose* (Kamilatussaniah et al., 2016) serta jenis madu yang digunakan berupa madu multiflora.

Cidera pada ginjal yang disebabkan oleh obstruksi ureter akan menyebabkan stress mekanik karena terjadi hidronefrosis ginjal yang mengakibatkan peregangan dari epitel ginjal dan tubulus sehingga hal tersebut akan menyebabkan terjadinya cedera tubulus dan inflamasi yang memicu terjadinya stress oksidatif yang akan menyebabkan gangguan fungsi ginjal, salah satunya peningkatan kadar ureum karena adanya apoptosis serta fibrosis pada sel.

2.8 Kerangka Teori

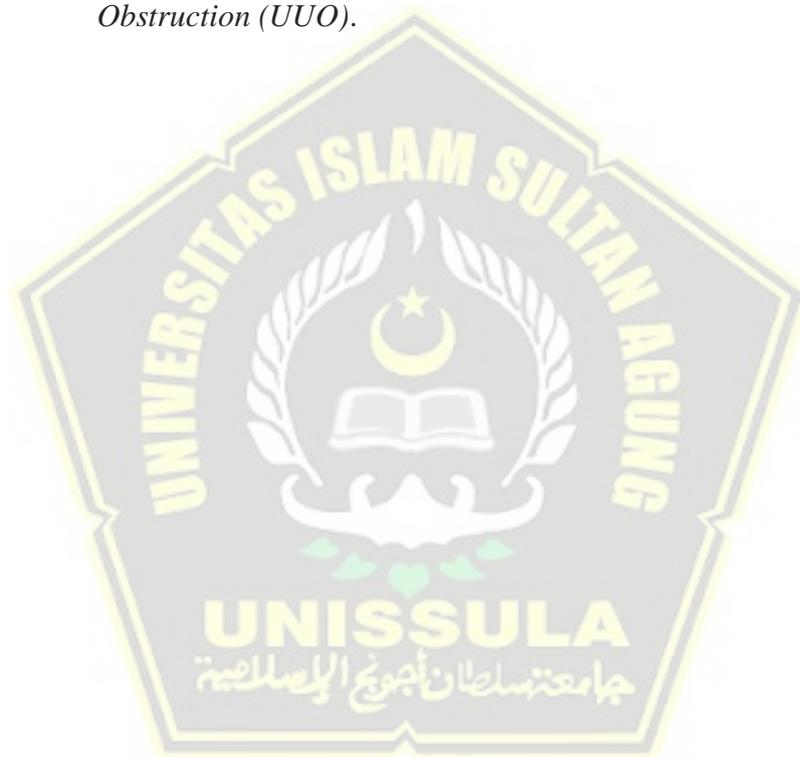


2.9 Kerangka Konsep



2.10 Hipotesis

Pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dapat menurunkan kadar ureum tikus yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)*.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis dari penelitian ini yaitu penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian “*pre-post test randomized controlled group design*”.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1 Variabel Penelitian

3.2.2.1 Variabel Bebas

Dosis kombinasi madu dan habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

3.2.2.2 Variabel Terikat

Kadar ureum tikus yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)*.

3.3.2 Definisi Operasional

3.5.1.1 Kombinasi Madu dan Habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

Kombinasi madu dan habbatussauda (*Nigella sativa L.*) adalah kombinasi bahan alami berupa madu pramuka multiflora pada tikus galur Wistar (volume lambung tikus galur Wistar : 5 ml) dan minyak habbatussauda yang diberikan secara terpisah. Dosis pemberian minyak habbatussauda 1 ml/KgBB (Alkadri et al., 2019) dan dosis madu 1,35 mL/tikus/hari (Asfur & Sadewo, 2019) sebagai acuan penentuan dosis dengan

menggunakan metode *half dose* and *double dose* (Kamilatussaniah et al., 2016). Kombinasi tersebut diberikan 1 kali sehari selama 21 hari secara peroral dengan pipet dengan cara diteteskan. Terdapat 3 kelompok uji dengan pemberian dosis yang berbeda-beda, yaitu kelompok dosis kombinasi madu 0,675 mL/tikus/hari dan habbatussauda 0,5 ml/KgBB, kelompok dosis kombinasi madu 1,35 mL/tikus/hari dan habbatussauda 1,0 ml/KgBB, serta kelompok dosis kombinasi madu 2,7 mL/tikus/hari dan habbatussauda 2,0 ml/KgBB.

Skala data : Ordinal.

3.5.1.2 Kadar Ureum

Hasil pengukuran kadar ureum yang diambil dari v. *Ophthalmica* tikus putih jantan galur Wistar diambil pada hari ke 22 setelah perlakuan. Penilaian kadar ureum dilakukan dengan menggunakan metode enzimatik dengan penggunaan enzim urease yang menghidrolisis ureum dalam sampel kemudian menghasilkan ion ammonium yang kemudian diukur.

Skala data : Rasio

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan Galur Wistar yang dipelihara di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada

Yogyakarta. Teknik sampling yang digunakan adalah *purposive sampling* (Setiawan, 2005). Besar sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian di hitung menggunakan rumus Frederer (Federer, 1963) dengan jumlah kelompok yaitu 5 kelompok uji. Perhitungan dengan menggunakan rumus Frederer (Federer, 1963), sebagai berikut :

$$\text{Rumus Frederer} \quad : (n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan : n = Jumlah sampel tiap kelompok

: t = Jumlah kelompok

Banyak Kelompok : 5 kelompok

$$\text{Sampel tiap kelompok} : (n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$: (n-1) \times (5-1) \geq 15$$

$$: (n-1) \times 4 \geq 15$$

$$: 4n - 4 \geq 15$$

$$: n \geq (15 + 4) / 4$$

$$: n \geq 4,75 \text{ (dibulatkan)}$$

$$: n > 5$$

Berdasarkan perhitungan rumus Frederer, didapatkan 5 ekor tikus perkelompok, dan untuk menghindari lost to follow up, maka ditambahkan 1 ekor tikus. Tikus putih galur Wistar jantan sebanyak 30 ekor yang akan di randomisasi menjadi 5 kelompok. Tikus putih yang akan digunakan dalam penelitian ini sebagai subjek uji yaitu tikus yang memenuhi kriteria sebagai berikut :

Kriteria Inklusi :

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) galur Wistar jantan.
2. Berusia 2-3 bulan.

3. Bobot tikus 180-220 gram.
4. Sehat pada penampilan luar :
 - a. Bergerak aktif
 - b. Makan dan minum normal
 - c. Tidak ada luka dan tidak ada cacat

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini diantaranya, kandang untuk tikus lengkap dengan tempat pakan dan minum, timbangan tikus, sarung tangan, spuit 5 cc, spuit 1 cc, pipet, *micro cauter*, gunting jaringan, gunting bengkok, needle holder, gunting lurus, pinset bengkok, pinset chirurgis, pita perekat, jarum kulit, benang jahit silk 3/0.

3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini diantaranya madu, habbatussauda (*Nigella sativa L.*), pakan dan minum tikus, Somnophenyl[®], povidone iodine

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Pembuatan Ekstrak

3.5.2.1 Minyak Habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

Habbatussauda yang digunakan dalam penelitian ini merupakan minyak habbatussuda yang sudah jadi.

3.5.2 Penentuan Dosis

3.5.3.1 Dosis Madu

Dosis pemberian madu pada penelitian sebelumnya yaitu 1,35 mL/tikus/hari selama 15 hari pada kelompok perlakuan (Asfur & Sadewo, 2019) sebagai acuan penetapan dosis lain menggunakan metode *half dose* and *double dose* (Kamilatussaniah et al., 2016), sehingga pada penelitian ini pemberian dosis madu sebanyak 0,675 mL/200 gr/hari, 1,35 mL/200 gr/hari, dan 2,025 mL/200 gr/hari.

3.5.3.2 Dosis Habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

Pemberian habbatussauda pada penelitian sebelumnya adalah 1 ml/KgBB (Alkadri et al., 2019) setara dengan 0,2 ml/200 gr/hari sebagai acuan penetapan dosis lain menggunakan metode *half dose* and *double dose* (Kamilatussaniah et al., 2016), sehingga penelitian ini menggunakan dosis habbatussauda yang telah di konversi sebanyak 0,5 mL/KgBB, 1,0 mL/KgBB, 2,0 mL/KgBB.

3.5.3.3 Dosis Irbesartan

Pemberian irbesartan pada penelitian sebelumnya pada tikus putih jantan dengan berat 200 gram yaitu 2,7 mg atau setara dengan 13,5 mg/KgBB (Harmely et al., 2018).

Sehingga penelitian ini menggunakan dosis irbesartan sebanyak 13,5 mg/KgBB.

3.5.3 Pemberian Perlakuan

Tikus diadaptasikan selama 7 hari di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, kemudian dibagi secara randomisasi ke dalam 5 kelompok dengan masing-masing terdiri atas 6 ekor tikus.

Tikus dibuat menjadi tikus model penyakit ginjal kronik menggunakan metode *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO), yaitu metode untuk membuat tikus model penyakit ginjal kronik dengan cara meligasi atau mengikat ureter dengan jumlah dua ikatan. Langkah – langkah untuk membuat tikus model penyakit ginjal metode *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) antara lain :

- a. Tikus di anestesi menggunakan Somnophenyl[®] (Natrium Pentobarbital) yang telah diencerkan 10 kali (0,1 ml / 10 grBB).
- b. Rambut tikus dicukur habis pada regio lumbalis (*flank*) sisi kanan atau kiri.
- c. Dilakukan antisepsis pada area yang akan di insisi menggunakan povidone iodine.
- d. Insisi pada kulit dan fascia renalis regio lumbalis (*flank*) sepanjang \pm 1,5 cm.

- e. Identifikasi terlebih dahulu organ ginjal, kemudian telusuri bagian polus posteroinferior hingga tampak ureter.
- f. Ungkit ureter keluar sampai ke permukaan kulit.
- g. Ligasi pada ureter di daerah proksimal dan dan distal menggunakan benang jahit silk 3/0, kemudian potong ureter di antara kedua ligasi tersebut untuk mencegah infeksi atau refluks dari urin.
- h. Penjahitan pada fascia renalis dan kulit menggunakan benang jahit silk 3/0.
- i. Setelah dijahit, luka bekas jahitan diberi antiseptic, lalu mencit dibiarkan hingga sadar.

Setelah dilakukan metode *Ureteral Obstruction* (UUO), mencit dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan UUO, sementara 1 kelompok tidak dilakukan UUO, sehingga pembagian kelompok tersebut antara lain :

3.5.3.1 Kelompok 1

Kelompok normal sebanyak 6 ekor tikus. Tikus dilakukan metode *Sham Operation*. Tikus tidak diberi kombinasi madu dan habbatussauda serta, tetapi hanya diberikan pakan standar dan aquadest.

3.5.3.2 Kelompok 2

Kelompok kontrol positif sebanyak 6 ekor tikus. Tikus dilakukan metode UUO selama 14 hari, serta diberikan irbesartan 13,5 mg/KgBB selama 21 hari.

3.5.3.3 Kelompok 3

Kelompok uji 1 sebanyak 6 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquadest, metode UUO selama 14 hari, serta kombinasi madu 0,675 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 0,5 ml/KgBB selama 21 hari.

3.5.3.4 Kelompok 4

Kelompok uji 2 sebanyak 6 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquadest, metode UUO selama 14 hari, serta kombinasi madu 1,35 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 1,0 ml/KgBB 21 hari.

3.5.3.5 Kelompok 5

Kelompok uji 3 sebanyak 6 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquadest, metode UUO selama 14 hari, serta kombinasi madu 2,025 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 2,0 ml/KgBB selama 21 hari.

3.5.4 Cara Pengambilan Serum

Tikus dimasukkan ke dalam tabung eter 30-60 detik untuk anestesi. Tikus ditempatkan pada posisi pengambilan darah, pengambilan melalui v. Ophtalmica menggunakan mikrohematokrit non heparin. Darah akan ditampung dalam vacuntainer bertutup

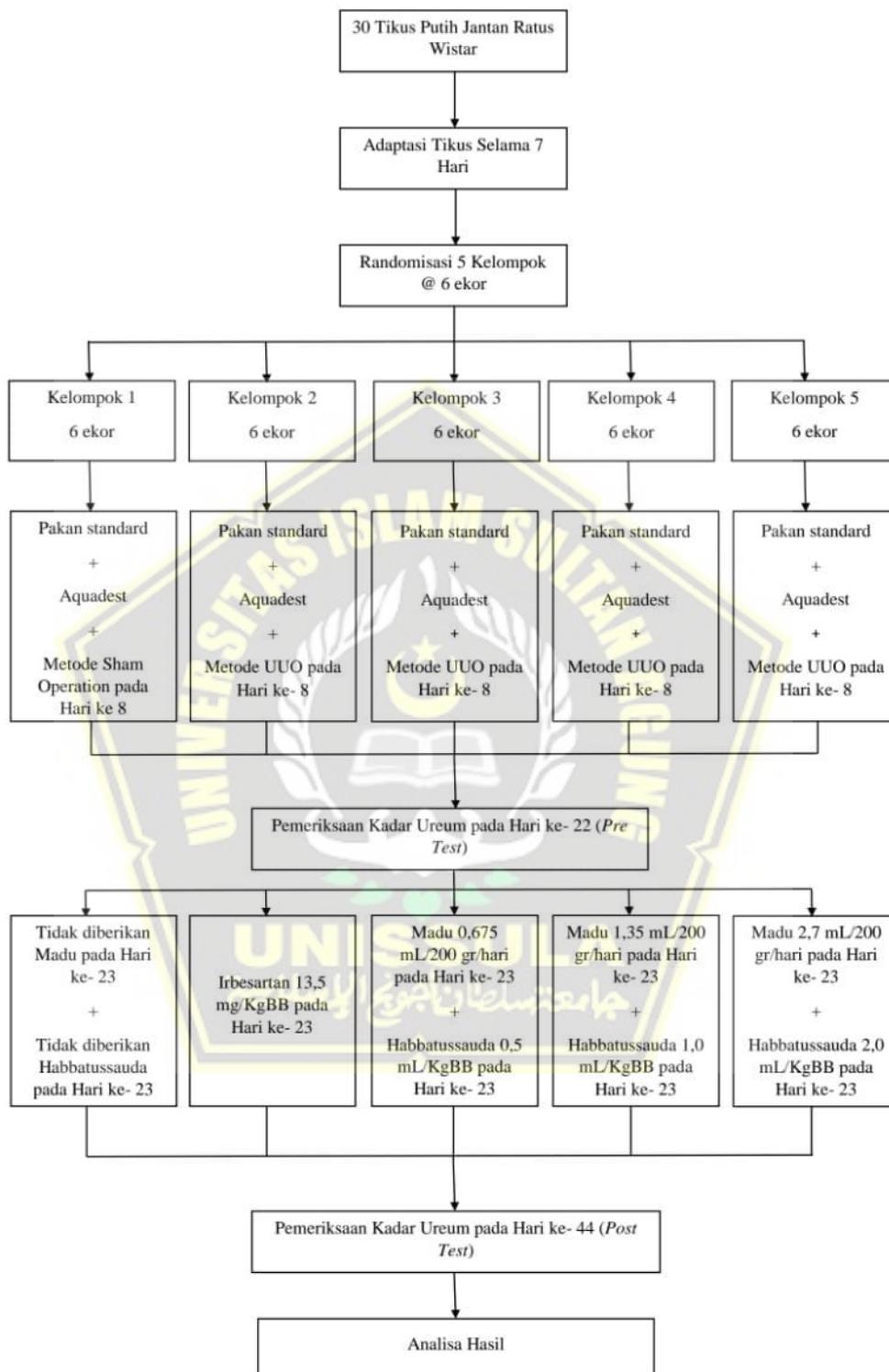
merah sampai volume 3 cc, kemudian dicabut dan swab sisa darah di sudut bola mata. Darah kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga mendapatkan serum. Pengambilan serum menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam tabung ependorf yang sudah diberi label.

3.5.5 Cara Pemeriksaan Kadar Ureum

Pengukuran kadar ureum serum yang digunakan adalah metode enzimatik, dimana enzim urease akan menghidrolisis ureum dalam sampel dan menghasilkan ion ammonium, lalu di ukur. Satuan kadar ureum yaitu mg/dL, dengan nilai rujukan kadar ureum dengan specimen serum adalah 6-20 mg/dL.



3.6 Alur Penelitian



3.7 Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1 Tempat Penelitian

Pemeliharaan serta penelitian pada hewan uji coba akan dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

3.7.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama satu bulan dimulai dari 14 Juni 2021 sampai 26 Juli 2021 (42 hari)

3.8 Analisis Hasil

Data pengukuran kadar ureum merupakan data dengan skala rasio. Data hasil dari penelitian diolah dengan menggunakan program SPSS. Data *pre test* dan *post test* terlebih dahulu di uji normalitas dan homogenitas masing-masing menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's test*. Data *pre test* dan *post test* dinyatakan berdistribusi normal dengan hasil uji *Shapiro-Wilk* memiliki nilai $p > 0.05$ dan data dinyatakan tidak homogen dengan hasil *Levene's test* memiliki nilai $p = 0,000$ (homogen : $p > 0,005$).

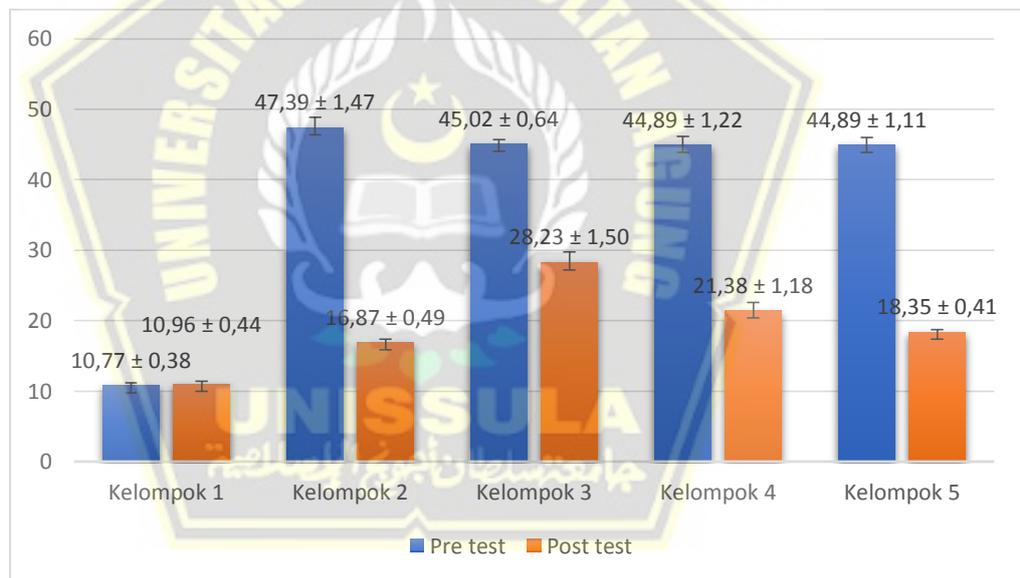
Pada data *pre* dan *post test* dilakukan uji >2 kelompok tidak berpasangan. Data didapatkan berdistribusi normal dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* dan memiliki hasil yang bermakna dan varian berbeda, maka dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Test Equal Variances Not Assumed* (data tidak homogen) dan memiliki hasil terdapat perbedaan yang signifikan pada beberapa kelompok.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum tikus yang diinduksi UUU telah selesai dilaksanakan. Pada awal penelitian, jumlah sampel tikus jantan Rattus Wistar sebanyak 30 ekor tikus yang kemudian dirandomisasi menjadi 5 kelompok dengan jumlah setiap kelompok adalah 6 ekor. Selama penelitian tidak ada tikus yang sakit maupun mati, kemudian tikus diberikan perlakuan sesuai dengan alur penelitian.



Gambar 4. 1 Grafik rerata kadar ureum *pre test* dan *post test*

Pada gambar 4.1 tampak bahwa rata-rata kadar ureum kelompok yang diinduksi UUU (kelompok 2, 3, 4, dan 5) lebih tinggi dibandingkan kelompok yang diinduksi *sham operation* (kelompok 1). Rata-rata ureum pada kelompok 1 dalam batas normal baik *pre test* maupun *post test*. Rata-rata

kadar ureum *pre test* pada kelompok 2, 3, 4, dan 5 meningkat dari kadar normal, sedangkan rata-rata kadar ureum *post test* mendekati kadar normal. Sebaran data kadar ureum dari lima kelompok tikus dianalisis dengan uji *Shapiro-Wilk* dan homogenitas data dianalisis dengan uji *Levene's Test*. Hasil uji normalitas dan homogenitas kelima kelompok tikus ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Hasil uji *Shapiro-Wilk* dan uji *Levene's Test* kadar ureum

Perlakuan	Kelompok Penelitian	Hasil Uji Normalitas	Hasil Uji Levene's Test
<i>Pre Test</i>	Kelompok 1	0,814	0,238
	Kelompok 2	0,691	
	Kelompok 3	0,921	
	Kelompok 4	0,256	
	Kelompok 5	0,784	
<i>Post Test</i>	Kelompok 1	0,789	0,000
	Kelompok 2	0,510	
	Kelompok 3	0,101	
	Kelompok 4	0,165	
	Kelompok 5	0,535	

Keterangan : sebaran data normal dan homogen ($p > 0,05$)

Hasil uji normalitas pada kelima kelompok tikus pada *pre test* dan *post test* diperoleh hasil data berdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas dengan *Levene's Test* pada kelima kelompok *pre test* diperoleh hasil data homogen dengan nilai p sebesar 0,238 sementara pada kelima kelompok *post test* diperoleh hasil data tidak homogen dengan nilai p sebesar 0,000

(homogen : $p > 0,005$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik dengan uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil uji *One Way Anova* rerata kadar ureum *pre* dan *post test*

Perlakuan	Kelompok	Rerata Kadar Ureum (mg/dL) \pm SD	Nilai <i>p</i>
<i>Pre Test</i>	Kelompok 1	10,77 \pm 0,38	0,000
	Kelompok 2	47,39 \pm 1,47	
	Kelompok 3	45,02 \pm 0,64	
	Kelompok 4	44,89 \pm 1,22	
	Kelompok 5	44,89 \pm 1,11	
<i>Post Test</i>	Kelompok 1	10,96 \pm 0,44	0,000
	Kelompok 2	16,87 \pm 0,49	
	Kelompok 3	28,23 \pm 1,50	
	Kelompok 4	21,38 \pm 1,18	
	Kelompok 5	18,35 \pm 0,41	

Hasil uji *One Way Anova* pada kelima kelompok tikus baik *pre test* maupun *post test* diperoleh nilai *p* sebesar 0,000 ($p < 0,05$), maka dapat menunjukkan bahwa paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai perbedaan rerata kadar ureum yang bermakna. Selanjutnya data *pre* dan *post test* dilakukan uji *Post Hoc Tamhane's T2*.

Tabel 4. 3 Hasil uji *Post Hoc Tamhane's T2* rerata kadar ureum *pre test*

	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4	Kelompok 5
Kelompok 1	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Kelompok 2	0,000	-	0,085	0,095	0,082
Kelompok 3	0,000	0,085	-	1,000	1,000

Kelompok 4	0,000	0,095	1,000	-	1,000
Kelompok 5	0,000	0,082	1,000	1,000	-

Keterangan : * = perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Hasil uji *Post Hoc Tamhane's T2* pada *pre test*, secara statistik antara kelompok yang dilakukan UUO (kelompok 2, 3, 4, dan 5) tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$), sementara keempat kelompok tersebut memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok 1 ($p < 0,05$), sehingga hal tersebut membuktikan bahwa UUO dapat meningkatkan kadar ureum.

Hasil uji *Post Hoc Tamhane's T2* pada *post test* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan dosis secara bermakna. Hasil uji *Post Hoc Tamhane's T2* ditunjukkan pada tabel 4.4.

Tabel 4. 4 Hasil uji *Post Hoc Tamhane's T2* rerata kadar ureum *post test*

	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3	Kelompok 4	Kelompok 5
Kelompok 1	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Kelompok 2	0,000	-	0,000	0,001	0,002
Kelompok 3	0,000	0,000	-	0,000	0,000
Kelompok 4	0,000	0,001	0,000	-	0,009
Kelompok 5	0,000	0,002	0,000	0,009	-

Keterangan : * = perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tamhane's T2*, secara statistik terdapat perbedaan dosis yang bermakna ($p < 0,05$) pada setiap kelompok rerata kadar ureum *post test*.

Hasil uji T Berpasangan pada masing-masing kelompok pre test dan post test disajikan pada tabel 4.5 berikut:

Tabel 4. 5 Hasil uji T Berpasangan kadar ureum Pre Test dan Post Test

	Rerata Kadar Ureum (mg/dL) ± SD	Selisih Rerata Kadar Ureum (mg/dL) ± SD	IK 95%	Nilai p
Kadar Ureum <i>Pre Test</i> Kelompok 1	10,77 ± 0,38			
Kadar Ureum <i>Post Test</i> Kelompok 1	10,96 ± 0,44	0,20 ± 0,11	0,08 – 0,32	0,008
Kadar Ureum <i>Pre Test</i> Kelompok 2	47,39 ± 1,47			
Kadar Ureum Kelompok 2 <i>Post Test</i>	16,87 ± 0,49	30,52 ± 1,39	29,06 – 31,98	0,000
Kadar Ureum <i>Pre Test</i> Kelompok 3	45,02 ± 0,64			
Kadar Ureum Kelompok 3 <i>Post Test</i>	28,23 ± 1,50	16,79 ± 1,71	14,99 – 18,59	0,000
Kadar Ureum <i>Pre Test</i> Kelompok 4	44,89 ± 1,22			
Kadar Ureum Kelompok 4 <i>Post Test</i>	21,38 ± 1,18	23,51 ± 2,26	21,14 – 25,88	0,000
Kadar Ureum <i>Pre Test</i> Kelompok 5	44,89 ± 1,11			
Kadar Ureum Kelompok 5 <i>Post Test</i>	18,35 ± 0,41	26,54 ± 0,83	25,67 – 27,41	0,000

Hasil uji T Berpasangan pada kelima kelompok tikus diperoleh nilai $p < 0,05$ dan IK tidak melewati nol, sehingga secara statistik terdapat perbedaan rerata kadar ureum yang bermakna sebelum dan sesudah UUU.

4.2 Pembahasan Hasil

Obstruksi pada saluran kemih di bagian proksimal atau distal dapat diikuti dengan inflamasi dan infeksi, meskipun ada kasus yang tidak diikuti dengan infeksi (Arifianto et al., 2020) dan hal tersebut dapat mempengaruhi progresifitas penyakit. Cidera dan inflamasi pada ginjal yang disebabkan oleh obstruksi ureter menyebabkan stress mekanik karena adanya hidronefrosis ginjal yang menyebabkan peregangan epitel ginjal dan tubulus sehingga memicu stress oksidatif dan mengakibatkan gangguan fungsi ginjal, seperti peningkatan kadar ureum karena apoptosis dan fibrosis pada sel. Pembentukan myofibroblas pada ligasi ureter yang dilakukan pada UUO menyebabkan fibrosis ginjal dengan beberapa sel yang berkontribusi didalamnya, seperti EMT, sel yang berasal dari derivat sumsum tulang, sel endotel, perisit atau fibroblast perivaskular, dan fibroblast ekstrarenal (Arfian et al., 2016). UUO akan menginduksi fibrosis interstitial dan cedera tubular yang menyebabkan gangguan arsitektur ginjal yang disebabkan oleh fibrosis yang akan meningkatkan jumlah sel apoptosis yang dikaitkan dengan peningkatan regulasi ekspresi mediator inflamasi, seperti ICAM-1, MCP-1, TLR-4 yang berperan dalam mekanisme kerusakan ginjal pada fibrosis ginjal (Arfian et al., 2016). Inflamasi yang dihasilkan oleh UUO merupakan hasil dari stress oksidatif, aktivasi RAAS, dan stimulasi sitokin dimana RAAS akan menginduksi peningkatan ROS oleh Nox dan supresi Nrf2 serta merangsang produksi faktor yang dapat memicu migrasi leukosit dan inflamasi seperti TGF- β 1, TNF- α , MCP-1, VCAM-1, dan NF-kB (Martínez-

Klimova et al., 2019). ROS tersebut menjadi media hipertensi jalur angiotensin II dengan patofisiologi yang rumit seperti inflamasi, remodelling, kalsifikasi, dan atherosklerosis (Susanto et al., 2019). Penelitian yang dilakukan sebelumnya, bahwa tikus yang dilakukan UUO selama dua minggu dan tanpa diberikan terapi, maka akan tetap mengalami fibrosis interstitial dan cedera tubular yang disertai dengan peningkatan kadar fungsi ginjal, peningkatan kadar TGF- β 1, peningkatan apoptosis sel epitel, serta peningkatan mediator inflamasi (Arfian et al., 2016), penelitian lain menunjukkan bahwa kadar ureum dapat menyebabkan peningkatan kadar ureum menjadi $34,7 \pm 6,8$ mmol/L setelah dilakukan UUO selama 10 hari dan setelah dilakukan UUO selama 14 hari tikus mengalami peningkatan tajam kadar ureum hingga menyebabkan kematian tikus pada hari ke 13 (Tapmeier et al., 2008).

Kelompok tikus dengan UUO dan diberikan irbesartan selama dua minggu mengalami penurunan kadar ureum jika dibandingkan dengan kadar ureum sebelum pemberian irbesartan, hal tersebut mendukung penjelasan bahwa irbesartan merupakan obat anti hipertensi golongan ARB dengan mekanisme kerja yaitu memblokir reseptor Angiotensin II (Benowitz, 2007) dimana Angiotensinogen akan diubah oleh Renin menjadi Angiotensin I dan dirubah menjadi Angiotensin II oleh ACE, dimana ARB akan memblokir reseptor Angiotensin II dan akan terjadi vasodilatasi yang mengakibatkan penurunan tahanan vaskuler perifer serta penurunan retensi natrium dan air yang mengakibatkan penurunan tekanan darah (Harmely et al., 2018).

Irbesartan memiliki efek renoprotektif yang kuat disertai dengan peningkatan ekspresi protein HGF di ginjal secara signifikan yang disebabkan oleh aktivasi PPAR γ dan blokade AT1R bebas, sehingga irbesartan akan mengurangi fibrosis ginjal melalui efek antifibrotik yang terkandung dalam irbesartan melalui jalur PPAR γ – HGF dan blokade AT1R bebas serta mengurangi infiltrasi makrofag dan mengurangi area myofibroblas (Kusunoki et al., 2013). Irbesartan juga akan menekan persinyalan redoks secara signifikan serta peradangan yang di mediasi aldosteron, sehingga irbesartan dapat menjadi renoprotektif melalui blokade reseptor Angiotensin II yang disebabkan oleh inhibisi dari inflamasi dan EMT serta penurunan stress oksidatif yang disebabkan oleh ekspresi HGF lokal yang diinduksi PPAR γ (Kusunoki et al., 2013).

Kelompok tikus dengan UUO dan diberikan dosis kombinasi 1 selama tiga minggu pada kelompok 3 mengalami penurunan kadar ureum jika dibandingkan dengan kadar ureum sebelum pemberian dosis kombinasi 1, tetapi penurunan belum mencapai batas kadar normal ureum, hal tersebut diduga karena pemberian *half dose* pada madu pada kelompok tikus tersebut menyebabkan peningkatan SOD dan katalase yang lebih rendah (Yuniastuti et al., 2015) serta mengakibatkan peningkatan kadar TSA serta penurunan kadar MDA yang lebih rendah (Kamilatussaniah et al., 2016) jika dibandingkan dengan pemberian dosis maupun *double dose*, sementara pemberian half dose pada habbatussauda diduga akan menyebabkan penurunan tanda inflamasi dengan penurunan TNF- α , NF-kB, dan COX-2 serta penurunan nitrit oksida

yang lebih rendah sehingga diduga memberikan perbaikan struktur ginjal yang lebih rendah juga (Oktaria et al., 2019) jika dibandingkan dengan pemberian dosis dan *double dose*, sehingga dari faktor pemberian dosis tersebut akan menyebabkan penurunan kadar ureum yang belum mendekati batas normal. Kelompok tikus dengan UUO dan diberikan dosis kombinasi 2 selama tiga minggu pada kelompok 4 mengalami penurunan kadar ureum jika dibandingkan dengan kadar ureum sebelum pemberian dosis kombinasi 2, tetapi penurunan belum mencapai batas kadar normal ureum. Kelompok tikus dengan UUO dan diberikan dosis kombinasi 3 selama tiga minggu pada kelompok 5 mengalami penurunan kadar ureum jika dibandingkan dengan kadar ureum sebelum pemberian dosis kombinasi 3, tetapi penurunan hampir sama dengan kelompok pemberian irbesartan, tetapi masih dalam rentang batas normal. Kelompok 5 memiliki potensi untuk menurunkan kadar ureum karena penurunan hampir mendekati kelompok kontrol, hal tersebut sesuai dengan penelitian bahwa penurunan kadar ureum dari pengukuran sebelum pemberian kombinasi dan sesudah pemberian kombinasi secara signifikan, dimana kadar ureum setelah pemberian menjadi normal dan hal tersebut sejalan dengan pernyataan dimana pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dapat meningkatkan efek antioksidan 3-4 kali lipat (Alkadri et al., 2019), sehingga hal tersebut dapat membuktikan bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dapat menjadi alternatif pengobatan penyakit ginjal kronik untuk menurunkan kadar ureum yang meningkat serta dapat digunakan sebagai proteksi yang baik terhadap ginjal karena memiliki

efek yang sinergis. Madu yang diduga mengandung mineral yang berfungsi untuk menjaga tubuh tetap segar serta vitamin C, A, E, asam organik, asam fenolik, flavonoid, dan beta karoten yang memiliki fungsi sebagai antioksidan yang bekerjasama melindungi sel normal dalam menetralkan radikal bebas, sementara beta karoten akan meredakan radikal bebas singlet oksigen (Parwata et al., 2010). Habbatussauda yang diduga mengandung *Thymoquinone* dapat menghambat mekanisme produksi angiotensin II sehingga mencegah dan menurunkan stress oksidatif yang disebabkan oleh kandungan total renal thiol yang lebih tinggi, aktivitas superoksida dismutase dan katalase yang lebih tinggi dan penurunan apoptosis, serta penurunan kadar protein TNF- α , Angiotensin II, dan MCP-1 karena dilakukannya ligasi pada ureter (Martínez-Klimova et al., 2019). Pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terbukti dapat menurunkan kadar ureum pada tikus jantan galur Wistar. Kadar ureum normal dengan spesimen serum darah pada manusia adalah 6-20 mg/dL (Verdiansah, 2016) sementara kadar ureum normal pada tikus putih adalah 15-21 mg/dL (Kurniawaty et al., 2014).

Keterbatasan dalam melakukan penelitian ini antara lain tidak adanya penambahan variasi dosis kombinasi sehingga belum diketahui dosis minimal dan optimal dalam menurunkan kadar ureum. Belum diketahuinya senyawa aktif yang lebih dominan pada madu dan habbatussauda dalam menurunkan kadar ureum dan interaksi zat aktif secara detail antara zat aktif yang terkandung dalam madu dan habbatussauda serta belum dilakukan pemeriksaan kadar antioksidan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- 5.1.1 Kombinasi madu dan habbatussauda dapat menurunkan kadar ureum tikus yang diinduksi UUO.
- 5.1.2 Pengaruh pemberian Irbesartan 13,5 mg/KgBB dalam menurunkan kadar ureum dengan selisih kadar ureum antara data *pre* dan *post test* adalah 30,52 mg/dL.
- 5.1.3 Pengaruh pemberian kombinasi madu 0,675 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 0,5 mL/KgBB dalam menurunkan kadar ureum dengan selisih kadar ureum antara data *pre* dan *post test* adalah 16,79 mg/dL.
- 5.1.4 Pengaruh pemberian kombinasi madu 1,35 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 1,0 mL/KgBB dalam menurunkan kadar ureum dengan selisih kadar ureum antara data *pre* dan *post test* adalah 23,51 mg/dL.
- 5.1.5 Pengaruh pemberian kombinasi madu 2,7 mL/200 gr/hari dan habbatussauda 2,0 mL/KgBB dalam menurunkan kadar ureum dengan selisih kadar ureum antara data *pre* dan *post test* adalah 26,54 mg/dL.
- 5.1.6 Pengaruh perbedaan pemberian dosis kombinasi madu dan habbatussauda dalam menurunkan kadar ureum tikus putih jantan galur Wistar yang telah diinduksi UUO dengan formulasi dosis pemberian kelompok 5.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa dosis terbaik dari kombinasi madu dan habbatussauda adalah dosis pada kelompok 4 dengan madu 1,35 ml/200 gr/hari dan habbatussauda 1 ml/KgBB/hari.



DAFTAR PUSTAKA

- Alkadri, S. L. F., Ilmiawan, M. I., & Handini, M. (2019). Efek Protektif Kombinasi Minyak Jintan Hitam dan Madu terhadap Hepatotoksisitas pada Tikus Akibat Sisplatin. *EJournal Kedokteran Indonesia*, 7(2). <https://doi.org/10.23886/ejki.7.10740>.
- Arfian, N., Muflikhah, K., Soeyono, S. K., Sari, D. C. R., Tranggono, U., Anggorowati, N., & Romi, M. M. (2016). Vitamin D attenuates kidney fibrosis via reducing fibroblast expansion, inflammation, and epithelial cell apoptosis. *Kobe Journal of Medical Sciences*, 62(2), E38–E44.
- Arifianto, D., Adji, D., Sutrisno, B., & Rickiawan, N. (2020). Renal Histopathology , Blood Urea Nitrogen and Creatinine Levels of Rats With Unilateral Ureteral Obstruction. *Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.22146/ijvs.v1i1.46515>
- Asfur, R., & Sadewo, G. (2019). Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Fungsi Ginjal (Ureum dan Kreatinin) Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Tuak. *Jurnal Ilmiah Kohesi*, 3(2), 88–92.
- Bakour, M., Al-Waili, N. S., El Menyiy, N., Imtara, H., Figuira, A. C., Al-Waili, T., & Lyoussi, B. (2017). Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity. *Journal of Food Science and Technology*, 54(13), 4205–4212. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2889-9>
- Basarslan, F., Yilmaz, N., Ates, S., Ozgur, T., Tutanc, M., Motor, V. K., Arica, V., Yilmaz, C., Inci, M., & Buyukbas, S. (2012). Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 31(7), 726–733. <https://doi.org/10.1177/0960327111433185>
- Benowitz, N. L. (2007). Farmakologi Dasar dan Klinik. In *Farmakologi Dasar dan Klinik*.
- BPOM. (2021). *Irbesartan*. PIO Nas. <http://pionas.pom.go.id/monografi/irbesartan>
- Depkes. (2017). *InfoDATIN Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI: Situasi Penyakit Ginjal Kronis*. 1–10. www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/
- Dipiro J, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, & Posey LM. (2015). Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach. In *AIAA Guidance, Navigation, and Control Conference*.

- Federer, W. T. (1963). *Experimental design : Theory and Application*.
- Harmely, F., Nasrul, E., Umar, S., Zaini, E., & Aldi, Y. (2018). Pengaruh Dispersi Padat Irbesartan-Poloxamer 188 Terhadap Tekanan Darah dan Kadar Nitric Oxide (NO) Pada Tikus Putih Jantan Hipertensi. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(2), 88. <https://doi.org/10.25077/jsfk.5.2.88-93.2018>
- Hayah, R. K. (2010). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (Nigella sativa Linn.) Terhadap Kadar Asam Urat Darah Dan Gambaran Histopatologi Ginjal Mencit (Mus musculus) Hiperurisemia*.
- Istiani, N. A. (2018). *Analisis Kualitas Madu Yang Beredar Di Kota Semarang Berdasarkan Parameter Massa Jenis, Indeks Bias, Dan Tegangan Permukaan*.
- Jaarin, K., Dic Foong, W., Hui Yeoh, M., Yusoff Nik Kamarul, Z., Mohd Saad Qodriyah, H., Azman, A., Sidik Fadhlullah Zuhair, J., Hamid Juliana, A., & Kamisah, Y. (2015). Mechanisms of the antihypertensive effects of Nigella sativa oil in L-NAME-induced hypertensive rats. *Clinics*, 70(11), 751–757. [https://doi.org/10.6061/clinics/2015\(11\)07](https://doi.org/10.6061/clinics/2015(11)07)
- Jalili, C., Salahshoor, M. R., Hoseini, M., Roshankhah, S., Sohrabi, M., & Shabanizadeh, A. (2017). Protective effect of thymoquinone against morphine injuries to kidneys of mice. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 11(2), 142–150.
- Kamilatussaniah, Yuniastuti, A., & Iswari, R. (2016). Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar TSA Dan MDA Tikus Putih Yang Diinduksi Timbal (Pb). *Jurnal MIPA Unnes*, 38(2), 108–114.
- Kurniawaty, Susantiningsih, & Gaol. (2014). The Effect of Djenkol (Pithecellobium Lobatum Benth.) Seeds Ethanol Extract on Levels of Blood Glucose, Urea and Creatinine in White Male Rats (Rattus Norvegicus) Sprague Dawley Strain induced Alloxan. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*.
- Kusunoki, H., Taniyama, Y., Rakugi, H., & Morishita, R. (2013). Cardiac and renal protective effects of irbesartan via peroxisome proliferator-activated receptor γ -hepatocyte growth factor pathway independent of angiotensin II Type 1a receptor blockade in mouse model of salt-sensitive hypertension. *Journal of the American Heart Association*, 2(2), 1–12. <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000103>
- Martínez-Klimova, E., Aparicio-Trejo, O. E., Tapia, E., & Pedraza-Chaverri, J. (2019). Unilateral ureteral obstruction as a model to investigate fibrosis-attenuating treatments. *Biomolecules*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/biom9040141>

- Oka Adi Parwata, I., Ratnayani, K., & Listya, A. (2010). Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) Dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata* L.). *Journal of Chemistry*, 4(1), 54–62.
- Oktaria, R., Dewi, R., Sari, P., Studi, P., Dokter, P., Kedokteran, F., Lampung, U., Anatomi, B., Anatomi, P., Kedokteran, F., Lampung, U., Obstetri, B., Kedokteran, F., & Lampung, U. (2019). *Efek Protektif Thymoquinone Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Spraque dawley yang Diinduksi Rifampisin Thymoquinone Protective Effect on Kidney of Spraque dawley Strains White Rats (Rattus norvegicus) Induced*. 6, 80–84.
- Setiawan, N. (2005). Teknik Sampling. *Inspektorat Jenderal Departemen Pendidikan Nasional Daftar*, 25–28. http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2009/03/teknik_sampling1.pdf
- Susanto, A., Purwanto, B., Putranto, W., Tri, R., Dewi, K., Suseno, A., & Supriyadi, R. (2019). Unilateral Ureteral Obstruction as a Model of Kidney Fibrosis and Increasing of Systolic Blood Pressure in Mice. *Indonesian Journal of Kidney and Hypertension*, 2(3). <https://doi.org/10.32867/inakidney.v2i3.34>
- Suwitra, K. (2019). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam* (S. Setiati (ed.); Edisi Keen, Vol. 2, Issue 2). <https://doi.org/10.20473/jr.v2-i.2.2016.56-60>
- Tapmeier, T. T., Brown, K. L., Tang, Z., Sacks, S. H., Sheerin, N. S., & Wong, W. (2008). Reimplantation of the ureter after unilateral ureteral obstruction provides a model that allows functional evaluation. *Kidney International*, 73(7), 885–889. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002797>
- Verdiansah. (2016). Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CDK*, 43(2), 148–154.
- Yeni MDalil, F. (2016). Hadis-Hadis Tentang Farmasi; Sebuah Kajian Integratif Dalam Memahami Hadis Rasulullah. *Proceeding IAIN Batusangkar*, 1(1), 15–16. <http://ecampus.iainbatusangkar.ac.id/ojs/index.php/proceedings/article/view/551>
- Yuniastuti, A., Kamilatussainah, & Sasi, F. A. (2015). Pengaruh Pemberian Madu Kelengkeng terhadap Aktivitas Enzim Superoxide Dismutase dan Katalase Pada Tikus Yang Diinduksi Pb Asetat. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi 6 2015*, 1(1), 100–103.