

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

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar sarjana kedokteran



Disusun Oleh:

Hilwa Qonita Almazia

30101800077

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG

2022

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

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Hilwa Qonita Almazia

30101800077

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 21 Februari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Digitally signed
by dr. Ulfah Dian I
Date: 2022.03.09
09:59:25 +07'00'

dr. Ulfah Dian Indravani M.Sc.

Anggota Tim Penguji

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

Pembimbing II

Digitally signed by
dr. Kamilia Dwi
Utami, M Biomed
Date: 2022.03.11
14:18:16 +07'00'

dr. Kamilia Dwi Utami M.Biomed

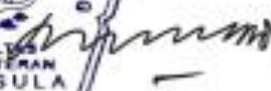
Dra. Eni Widayati M.Si.

Semarang, 21 Februari 2022

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,




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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Hilwa Qonita Almazia

NIM : 30101800077

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah berjudul :

**PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI MADU DAN
HABBATUSSAUDA TERHADAP KADAR KREATININ TIKUS (Studi
Eksperimental Terhadap 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 atau sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 21 Februari 2022

Yang menyatakan,



Hilwa Qonita Almazia

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 KREATININ TIKUS Studi Eksperimental Terhadap Tikus *Rattus Wistar* yang di 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. dr. Susilorini Sp.PA, M.Si, Med dan Dra. Eni Widayati M.Si 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. Almarhum abi Dr.dr. Ahmadi NH Sp.KJ , umi Siti Maesaroh AH, SHI, MH, kakak Azif Zilal Fauqi, dan Mira Ramdian Ningsih serta keluarga besar yang telah memberikan doa, kasih sayang, fasilitas, dan dukungan yang tiada henti selama penyusunan Skripsi ini.
6. Hanifah Tiara Putri, Gita Atiqa Faidiansyah, Yusri Apriliani Karyono, Mirella Fatika, sahabat seperjuangan penelitian yang telah banyak membantu dan mendukung selama penelitian. Fathimah Az-Zahra' , Mincha Fadlia, Hanifah Tiara Putri, Gita Atiqa Faidiansyah, Gita Dwi Safitri, Mutiara Delia Subiyanto, Natasha Aulia Jakfar, Nurul Kurnia Thoyyibah dan keluarga besar Avenzoar 2018 yang telah memberikan semangat dan dukungan penulis dalam menyusun 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, 21 Februari 2022

Hilwa Qonita Almazia

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Manfaat Penelitian	6
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	6
1.4.2. Manfaat Praktis	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Kreatinin.....	7
2.1.1. Pengertian.....	7
2.1.2. Nilai Normal.....	7
2.1.3. Faktor yang mempengaruhi kadar kreatinin	8
2.2. Penyakit Ginjal Kronik	9
2.2.1. Definisi Penyakit Ginjal Kronik.....	9
2.2.2. Etiologi pada Penyakit Ginjal Kronik	9
2.2.3. Patofisiologi dan Patogenesis Penyakit Ginjal Kronik	9
2.2.4. Klasifikasi Penyakit Ginjal Kronik	10

2.3.	Madu	11
2.4.	Habbatussauda.....	13
2.5.	Irbesartan.....	16
2.6.	<i>Unilateral Ureteral Obstruction</i> (UUO).....	18
2.7.	Pengaruh Kombinasi Madu dan Habbatussauda terhadap Penyakit Ginjal Kronik	19
2.8.	Kerangka Teori.....	22
2.9.	Kerangka Konsep	23
2.10.	Hipotesis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN.....		24
3.1.	Jenis dan Rancangan Penelitian	24
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional	24
3.2.1.	Variabel Penelitian	24
3.2.2.	Definisi Operasional.....	24
3.3.	Populasi dan Sampel	25
3.4.	Alat dan Bahan Penelitian.....	27
3.4.1.	Alat Penelitian.....	27
3.4.2.	Bahan Penelitian.....	27
3.5.	Cara Penelitian	28
3.5.1.	Pembuatan Ekstrak.....	28
3.5.2.	Penentuan Dosis	28
3.5.3.	Pemberian Perlakuan.....	29
3.5.4.	Cara Pengambilan Serum.....	32
3.5.5.	Cara Pemeriksaan Kadar Kreatinin.....	32
3.6.	Alur Penelitian	33
3.7.	Tempat dan Waktu Penelitian	34
3.7.1.	Tempat Penelitian.....	34
3.7.2.	Waktu Penelitian	34
3.8.	Analisis Hasil	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		36
4.1.	Hasil Penelitian	36

4.2. Pembahasan Hasil	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1. Kesimpulan	47
5.2. Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	54



DAFTAR SINGKATAN

ACE	: <i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
AGEPs	: <i>Advanced glycation end-product</i>
ARB	: <i>Angiotensin II Receptor Blockers</i>
PGK	: <i>Penyakit Ginjal Kronik</i>
ICAM-1	: <i>Adhesion Molecule-1</i>
LFG	: <i>Laju Filtrasi Glomerulus</i>
MCP-1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i>
MDA	: <i>Malondialdehid</i>
NF-Kb	: <i>Nuclear Factor-kappaB</i>
Nrf2	: <i>Nuclear factor erythroid 2-related factor 2</i>
RAAS	: <i>Renin-Angiotensin-Aldosterone System</i>
RBF	: <i>Renal Blood Flow</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor β</i>
TGF- β 1	: <i>Transforming Growth Factor β1</i>
TLR-4	: <i>Toll-Like Receptor 4</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor α</i>
UUO	: <i>Unilateral Uretreal Obstruction</i>
VCAM-1	: <i>Vascular Cell Adhesion Molecule 1</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Nilai rujukan kadar kreatinin	8
Tabel 2.2.	Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan derajat penyakitnya	10
Tabel 2.3.	Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi ..	11
Tabel 4.1.	Hasil Analisis Kadar Kreatinin Serum <i>Pretest</i> dan <i>Posttest</i>	37
Tabel 4.2.	Hasil Uji Beda Kadar Kreatinin Serum <i>Pretest</i> dan <i>Posttest</i> Antar Semua Kelompok	38
Tabel 4.3.	Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i> Perbedaan Kadar Kreatinin Serum <i>Pretest</i> Antar Dua Kelompok	39
Tabel 4.4.	Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> Perbedaan Kadar Kreatinin Serum <i>Posttest</i> Antar Dua Kelompok	39
Tabel 4.5.	Hasil Uji T Berpasangan Kadar Kreatinin Serum <i>Pretest</i> dan <i>Posttest</i>	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Biji dan bunga jantan hitam.....	16
Gambar 2.2.	Peristiwa yang terjadi pada model ginjal <i>Unilateral Ureteral Obstruction</i> (UUO)	19
Gambar 2.3.	Kerangka Teori.....	22
Gambar 2.4.	Kerangka Konsep.....	23
Gambar 3.1.	Alur Penelitian	33
Gambar 4.1.	Rerata Kadar Kreatinin Serum <i>Pretest-Posttest</i> Antar Kelompok.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data Hasil Penelitian.....	54
Lampiran 2.	Data Hasil Uji Deskriptif	56
Lampiran 3.	Data Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas.....	61
Lampiran 4.	Analisis Normalitas Sebaran Data dan Varian Kadar Kreatinin Serum Pretest dan Posttest (Hasil Transformasi).....	63
Lampiran 5.	Data Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kadar Kreatinin <i>Pre Test</i> dan <i>Post Test</i>	64
Lampiran 6.	Data Hasil Uji <i>Post Hoc LSD</i> Kadar Kreatinin.....	65
Lampiran 7.	Data Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> Kadar Kreatinin <i>Post Test</i>	67
Lampiran 8.	Data Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> Kadar Kreatinin <i>Post Test</i>	68
Lampiran 9.	Data Hasil Uji T Berpasangan Selisih Kadar Kreatinin <i>Pre Test</i> dan <i>Post Test</i>	74
Lampiran 10.	<i>Ethical Clearance</i>	76
Lampiran 11.	Surat Izin Penelitian	77
Lampiran 12.	Surat Keterangan Pinjam Laboratorium.....	78
Lampiran 13.	Keterangan Bebas Pinjam Laboratorium	79
Lampiran 14.	Dokumentasi	80
Lampiran 15.	Surat Undangan Ujian Skripsi.....	82

INTISARI

Diagnosis maupun perjalanan penyakit ginjal kronik dapat dinilai melalui nilai serum kreatinin yang merupakan salah satu penanda dari fungsi ginjal. Model *unilateral ureteral obstruction* (UUO) sering digunakan dalam pembuatan model gagal ginjal kronik, induksi UUO tersebut dapat meningkatkan nilai kreatinin karena adanya proses stres oksidatif. Potensi madu dan habbatussauda terhadap kadar kreatinin pada tikus model UUO belum dilaporkan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar kreatinin pada tikus Wistar yang diinduksi UUO.

Penelitian ini merupakan uji eksperimental menggunakan *pre-post test randomized controlled group design*. Sebanyak 30 ekor tikus jantan *Rattus Wistar* dirandomisasi menjadi 5 kelompok. Kelompok I merupakan kontrol normal yang dikenakan dengan metode Sham Operation, sedangkan kelompok II-V merupakan kelompok yang diinduksi UUO. Pemeriksaan kadar kreatinin dilakukan dua kali yaitu 14 hari setelah induksi UUO (*pretest*) dan *posttest* yaitu 21 hari setelah pemberian irbesartan 13,5 mg/kgBB (kelompok II), dan kelompok pemberian kombinasi madu dan habbatussauda (kelompok III-IV) dengan dosis 0,675 ml/200grBB/hari dan 0,5 ml/kgBB (kelompok III), dosis 1,35 ml/200 grBB/hari dan 1,0 ml/kgBB (kelompok IV), serta dosis 2,7 ml/200 grBB/hari dan 2,0 ml/kgBB (kelompok V). Pemeriksaan kadar kreatinin menggunakan metode *Jaffe Reaction* dengan alat spektrofotometer.

Kadar kreatinin *pretest* dan *posttest* pada semua kelompok signifikan ($p < 0,001$), dan menurun setelah pemberian perlakuan ($p < 0,05$). Dari ketiga dosis pemberian kombinasi madu dan habbatussauda, kelompok II adalah yang paling efektif menurunkan kadar kreatinin, namun efektifitasnya masih dibawah irbersartan.

Kesimpulan penelitian menunjukkan bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda berpengaruh terhadap kadar kreatinin pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi UUO.

Kata kunci: Kadar kreatinin, madu dan habbatussauda, UUO

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit ginjal kronik termasuk satu dari sekian banyak masalah kesehatan utama masyarakat global dan penyebab kematian paling banyak di dunia yang progresif dan irreversibel dengan berbagai penyebab (Price, 2012). Perawatan bagi penderita dengan penyakit ginjal kronik tahap akhir berupa hemodialisa atau transplantasi ginjal untuk memperbaiki kualitas hidup penderita (Butar-butar & Siregar, 2012). *The National Kidney Disease Education Program* menyatakan terkait pengukuran kemampuan filtrasi glomerulus dengan menggunakan serum kreatinin untuk memantau perjalanan penyakit ginjal. Diagnosis PGK bisa ditegakkan ketika kadar serum kreatinin meningkat di atas nilai normal. Kadar kreatinin relatif tetap, sehingga menjadikannya sebagai penanda filtrasi ginjal yang baik (Verdiansyah, 2016). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa madu dan habbatussauda berpotensi memiliki efek terhadap perbaikan ginjal. Madu berfungsi sebagai antioksidan karena kandungan nutrisinya yang melimpah seperti asam fenolik dan zat flavonoid yang dapat mencegah kerusakan ginjal akibat stress oksidatif (Asfur & Sadewo, 2019). Habbatussauda mengandung thymoquinone yang juga berfungsi sebagai agen antioksidan. Kombinasi madu dan Habbatussauda menghasilkan efek sinergis oleh karena peningkatan antioksidan 3-4 kali lipat lebih tinggi (Alkadri et al., 2019). Thymoquinone memiliki berbagai fungsi diantaranya sebagai

antiinflamasi, anti apoptosis, melawan nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas, serta mengandung antioksidan yang bisa mencegah bertambahnya radikal bebas sehingga melindungi sel dalam tubuh dari pengaruh stress oksidatif (Oktaria et al., 2019)

Kasus penyakit ginjal kronik semakin bertambah seiring dengan banyaknya penduduk usia lanjut. Menurut World Health Organization (WHO), PGK menjadi salah satu masalah kesehatan dunia yang memiliki angka kasus mortalitas sebesar 850.000 jiwa per tahun (Pongsibidang, 2016). Di negara berkembang terdapat sekitar 40-60 kasus perjuta penduduk pertahun (Suwitra, 2014). Menurut *Global Burden of Disease* pada tahun 2010, penyakit ginjal kronik menduduki urutan ke 18 dunia (Depkes, 2017). WHO memperkirakan pada tahun 1995-2025 terjadi kenaikan kasus penderita gagal ginjal sebesar 41,4% di Indonesia (Palupi et al., 2015). Menurut data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 prevalensi gagal ginjal kronik di Indonesia sekitar 3,8%. Prevalensi PGK meningkat seiring bertambahnya usia. Pada kelompok usia 15-24 tahun sekitar 0,13%, usia 25-34 tahun sekitar 0,23%, usia 35-44 tahun sekitar 0,33%, usia 45-54 tahun sekitar 0,56%, usia 55-64 tahun sekitar 0,72%, dan kelompok tertinggi pada usia 65-74 tahun sekitar 0,82% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2019).

Pengobatan ala Nabi atau Thibbun Nabawi merupakan petunjuk Rasulullah Saw. yang berkaitan dengan kesehatan maupun pengobatan yang bersumber dari Alquran dan Hadist. Thibbun Nabawi mencakup banyak hal,

diantaranya adalah mengonsumsi madu, habbatussauda, air zam-zam, buah kurma serta bekam (Ihsan, 2016). Madu dianjurkan untuk dikonsumsi sebagai pengobatan alami sebagaimana yang tertuang dalam Q.S An Nahl ayat 69. Madu mengandung zat flavonoid dan asam phenolic yang berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah kerusakan organ ginjal (Asfur & Sadewo, 2019). Salah satu jenis madu yang digunakan pada penelitian ini yaitu madu multiflora, dimana sumber nektarnya berasal dari berbagai jenis bunga dan harganya yang terjangkau (Istiani, 2018). Pada penelitian yang dilakukan oleh Asfur dan Sadewo didapatkan hasil bahwa madu dapat menurunkan kadar kreatinin dalam darah yang meningkat akibat pengaruh alkohol. Pemberian madu dengan dosis 1,35mL/tikus/hari selama 15 hari yang sebelumnya diberikan tuak dengan dosis 2,5mL/tikus/hari selama 15 hari (Asfur & Sadewo, 2019).

Selain madu, habbatussauda sering digunakan untuk pengobatan oleh karena memiliki banyak manfaat terutama bijinya seperti pada kisah sahabat nabi yang terdapat dalam *HR. Bukhari: 5255*. Beberapa kandungan pada habbatussauda yaitu terdapat senyawa bioaktif thymoquinone, nigellamine, thymol, omega 3, omega 6, omega 9, minyak esensial, dan fitosterol. Thymoquinone memiliki khasiat antiradang, antinyeri, dan sebagai antioksidan yang efektif mengeluarkan racun dari dalam tubuh (Junaedi et al., 2011). Penelitian lain menunjukkan bahwa kandungan Thymoquinone pada habbatussauda memberikan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal yang mengalami kerusakan akibat pemberian rifampisin.

Pemberian habbatussauda yang mengandung Thymoquinone dengan dosis 5 mg/KgBB, 10 mg/KgBB, dan 20 mg/KgBB, masing-masing dosis tersebut dilarutkan dalam 0,5 ml minyak zaitun (Oktaria et al., 2019).

Penggunaan tikus model *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)* banyak digunakan dalam penelitian terkait gagal ginjal kronik. UUO pada tikus menyebabkan iskemia ginjal sehingga terjadi cedera ginjal pada tikus, selain itu juga terjadi peningkatan tekanan darah sistolik tikus sejak minggu pertama setelah ligasi. Peningkatan tekanan darah sistolik pada tikus menunjukkan kerusakan parah akibat UUO, hal tersebut bisa terjadi karena formasi radikal reaktif dari stress oksidatif (Susanto et al., 2019). Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap salah satu parameter fungsi ginjal yaitu kadar kreatinin pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)*.

1.2. Rumusan Masalah

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

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

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

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Untuk mengetahui kadar kreatinin tikus putih jantan galur Wistar yang dilakukan *sham operation* dan diberi aquabides.

1.3.2.2. Untuk mengetahui kadar kreatinin tikus putih galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan diberi Ibersartan 13,5 mg/KgBB/hari.

1.3.2.3. Untuk mengetahui kadar kreatinin tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan pada kelompok 1 diberi kombinasi madu 0,675 mL /200 grBB/hari dan habbatussauda 0,5 ml/KgBB, kelompok 2 diberi kombinasi madu 1,35 mL /200 grBB/hari dan habbatussauda 1,0 ml/KgBB, kelompok 3 diberi kombinasi madu 2,7 mL/200 grBB/hari dan habbatussauda 2,0 ml/KgBB

1.3.2.4. Untuk mengetahui pengaruh dari perbedaan pemberian dosis kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar

kreatinin tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

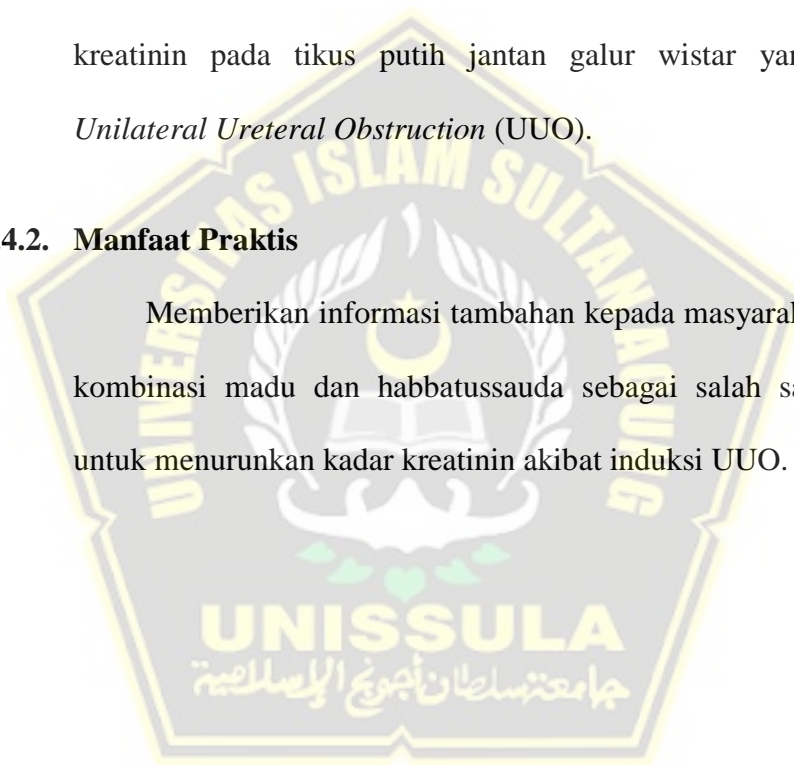
1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Sebagai bahan tambahan kajian dan pengembangan ilmu pengetahuan pada penelitian selanjutnya mengenai pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar kreatinin pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi tambahan kepada masyarakat mengenai kombinasi madu dan habbatussauda sebagai salah satu alternatif untuk menurunkan kadar kreatinin akibat induksi UUO.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kreatinin

2.1.1. Pengertian

Kreatinin merupakan produk akhir metabolisme dari kreatin fosfat pada otot yang diproduksi tubuh secara konstan dan difiltrasi oleh ginjal serta disekresi oleh tubulus proksimal. Penggunaan kreatinin serum direkomendasikan karena dapat memperkirakan laju filtrasi glomerulus yang digunakan sebagai pemantau perjalanan penyakit ginjal (Verdiansyah, 2016).

2.1.2. Nilai Normal

Kadar kreatinin diatas kisaran normal dapat mengindikasikan gangguan fungsi ginjal kronik. Kreatinin dapat diukur dari bahan pemeriksaan serum, plasma, atau urin. Nilai rujukan kadar kreatinin bisa dilihat berdasarkan tabel berikut :

Tabel 2.1. Nilai rujukan kadar kreatinin (Verdiansyah, 2016)

Populasi	Sampel	Rujukan
Pria dewasa	Plasma atau serum	0,9-1,3 mg/dL (80-115 μ mol/L)
Wanita dewasa	Plasma atau serum	0,6-1,1 mg/dL (53-97 μ mol/L)
Anak	Plasma atau serum	0,3-0,7 mg/dL (27-62 μ mol/L)
Pria dewasa	Urin 24 jam	800-2.000 mg/hari (7,1-17,7 mmol/hari)
Wanita dewasa	Urin 24 jam	600-1.800 mg/hari (5,3-15,9 mmol/hari)

2.1.3. Faktor yang mempengaruhi kadar kreatinin

Berikut ini faktor yang bisa memengaruhi kadar kreatinin, antara lain (Innike et al., 2014) :

1. Aktivitas fisik yang berlebih bisa meningkatkan kadar kreatinin
2. Obat-obat yang dapat mengganggu sekresi kreatinin sehingga menyebabkan kenaikan kreatinin seperti sefalosporin, aspirin, dan cotrimoxazole
3. Perubahan massa otot
4. Diet kaya daging dapat meningkatkan kadar kreatinin
5. Penyakit ginjal kronik dapat meningkatkan kreatinin
6. Peningkatan sekresi tubulus dan kerusakan kreatinin internal
7. Jenis kelamin dan usia. Kadar kreatinin wanita lebih rendah daripada laki-laki, serta kadar kreatinin biasanya meningkat seiring bertambahnya usia.

2.2. Penyakit Ginjal Kronik

2.2.1. Definisi Penyakit Ginjal Kronik

Penyakit ginjal kronik merupakan perkembangan penyakit ginjal yang progresif dan berlangsung lama lebih dari 3 bulan. Akibatnya, fungsi ginjal menurun dalam mempertahankan komposisi dan volume cairan tubuh dalam keadaan normal (Price, 2012).

2.2.2. Etiologi pada Penyakit Ginjal Kronik

Penyebab penyakit ginjal kronik beragam antar negara. Penyebab utama mulai dari yang tersering yakni DM, hipertensi, glomerulonefritis, nefritis interstisial, kista dan penyakit komorbid lainnya, penyakit sistemik seperti lupus dan vaskulitis, neoplasma, serta idiopatik (Suwitra, 2014).

2.2.3. Patofisiologi dan Patogenesis Penyakit Ginjal Kronik

Pada penyakit ginjal kronik terjadi pengurangan massa ginjal yang mengakibatkan abnormalitas struktur ataupun fungsi pada nefron. Dalam mempertahankan laju filtrasi glomerulus, ginjal melakukan usaha kompensasi yang diperantarai oleh molekul vasoaktif (sitokin dan *growth factors*) dengan meningkatkan kerja nefron sehingga mengakibatkan nefron yang tersisa mengalami hipertrofi dan filtrasi berlebihan, disertai peningkatan aliran darah dan tekanan kapiler glomerulus yang mana dapat mempengaruhi progresivitas penyakit ginjal kronik (Suwitra, 2014).

2.2.4. Klasifikasi Penyakit Ginjal Kronik

Terdapat 2 kelompok pembagian dari PGK, yaitu berdasarkan derajat penyakit dan diagnosis penyebab. Klasifikasi berdasarkan derajat penyakit ditentukan oleh perhitungan rumus *Kockcroft-Gault* (Suwitra, 2014).

$$CrCl \text{ (laki - laki)} = \frac{(140 - \text{umur}) \times BB}{72 \times SCr}$$

$$CrCl \text{ (perempuan)} = 0,85 \times \frac{(140 - \text{umur}) \times BB}{72 \times SCr}$$

Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan derajat penyakit, antara lain (Suwitra, 2014) :

Tabel 2.2. Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan derajat penyakitnya (Suwitra, 2014)

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	Gagal ginjal	< 15 atau dialisis

Tabel 2.3. Klasifikasi penyakit ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi (Suwitra, 2014)

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 tubulointerstisial (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 berulang (glomerular) 4. Transplant glomerulopathy

2.3. Madu

Madu merupakan hasil perubahan dari nektar tanaman oleh lebah yang disimpan dalam sarang lebah. Madu mempunyai banyak kandungan seperti asam fenolik, asam nikotinat, beta karoten, flavonoid, garam mineral, natrium, kalsium, kalium, zat besi, magnesium, fosfor, antibiotika serta vitamin larut lemak (vitamin A, D, E, K) dan vitamin larut air (vitamin C dan B kompleks). Rata-rata komposisi madu terdiri dari air (17,1%), karbohidrat (82,4%), protein (0,5%), mineral, asam amino, dan vitamin (Parwata et al., 2010). Madu banyak dikonsumsi dikalangan masyarakat dan digunakan sebagai pengobatan alami seperti terdapat dalam firman Allah pada surah An-Nahl ayat 69, sebagai berikut :

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

“Kemudian makanlah dari segala (macam) buah-buahan lalu tempuhlah jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu). Dari perut lebah itu keluar minuman (madu) yang bermacam-macam warnanya, di dalamnya terdapat obat yang menyembuhkan bagi manusia. Sungguh, pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir.”

(Q.S An-Nahl ayat 69).

Sebagaimana juga tercantum dalam hadits berikut :

عَلَيْكُمْ بِالشَّفَائَيْنِ: العسلِ وَالْقُرْآنِ.

Artinya: “ Hendaknya kalian menggunakan 2 macam obat : madu dan Al-Qur’an ”. (HR. Ibnu Majah, 3452 dari hadist Ibnu Mas’ud).

Kandungan pada madu seperti asam fenolik, asam organik, flavonoid, vitamin dan mineral berperan sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan ginjal. Antioksidan fenolik dalam madu dapat menambah ketahanan tubuh terhadap stress oksidatif. Fruktosa yang terkandung dalam madu dapat mengurangi zat toksik akibat alkohol. Madu juga terbukti menurunkan kadar kreatinin pada tikus yang diberi alkohol dan dapat meningkatkan efek protektif terhadapnya (Asfur & Sadewo, 2019). Jenis madu di Indonesia yang diproduksi secara kontinyu yaitu madu randu dan madu kelengkeng. Madu tersebut termasuk madu monofloral yaitu madu yang didapatkan dari satu jenis nektar. Perbedaan asal jenis bunga pada madu terkait juga dengan aktivitas anti radikal bebas yang berbeda. Pada penelitian yang dilakukan Oka Adi dkk menunjukkan hasil aktivitas

antiradikal bebas pada madu randu lebih rendah yaitu 69,37% daripada madu kelengkeng yaitu 82,10%. Sedangkan kadar beta karoten pada madu randu yaitu sebesar 3,6327 mg/100g lebih tinggi daripada madu kelengkeng yaitu 1,9687 mg/100g. Beta karoten termasuk salah satu senyawa penting dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan (Parwata et al., 2010).

Madu banyak tersebar di kalangan masyarakat. Salah satu jenis madu yang digunakan pada penelitian ini yaitu madu multiflora, sumber nektarnya berasal dari berbagai jenis bunga dan harganya yang terjangkau. Sehingga kandungan madu multiflora lebih tinggi dibandingkan jenis madu yang lain (Istiani, 2018).

2.4. Habbatussauda

Klasifikasi habbatussauda berdasarkan ilmu taksonomi tumbuhan (Junaedi et al., 2011) :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Traceabionta
Sub Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida-dicotyledon
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Ranunculaceae (buttercup)
Genus	: Nigella L
Species	: Nigella Sativa

Habbatussauda (*Nigella sativa*) atau jintan hitam banyak diketahui secara umum baik di Asia Tengah, Asia Timur maupun Timur Tengah sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai penyakit yang terdapat dalam hadist , sebagai berikut (Safarsyah, 2019) :

حَدَّثَنَا عَبْدُ اللَّهِ بْنُ أَبِي شَيْبَةَ حَدَّثَنَا عَبْدُ اللَّهِ حَدَّثَنَا إِسْرَائِيلُ عَنْ مَنْصُورٍ عَنْ خَالِدِ بْنِ سَعْدٍ قَالَ : خَرَجْنَا وَمَعَنَا غَالِبُ بْنُ أَبَجَرَ فَمَرِضَ فِي الطَّرِيقِ فَقَدِمْنَا الْمَدِينَةَ وَهُوَ مَرِيضٌ فَعَادَهُ ابْنُ أَبِي عَتِيقٍ فَقَالَ لَنَا : عَلَيْكُمْ هَذِهِ الْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ فَخَذُوا مِنْهَا خَمْسًا أَوْ سَبْعًا فَاسْحَقُوهَا ثُمَّ افْطَرُوهَا 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 مِنَ السَّامِ قُلْتُ وَمَا السَّامُ قَالَ الْمَوْتُ.

Artinya: "Telah menceritakan kepada kami Abdullah bin Abu Syaibah telah menceritakan kepada kami 'Ubaidullah telah menceritakan kepada kami Isra'il dari Manshur dari Khalid bin Sa'd dia berkata; Kami pernah bepergian yang di antaranya terdapat Ghalib bin Abjar, di tengah jalan ia jatuh sakit, ketika sampai di Madinah ia masih menderita sakit, lalu Ibnu Abu 'Atiq menjenguknya dan berkata kepada kami; "Hendaknya kalian memberinya habbatus sauda' (jintan hitam), ambillah lima atau tujuh biji, lalu tumbuklah hingga halus, setelah itu teteskanlah di hidungnya di sertai dengan tetesan minyak sebelah sini dan sebelah sini, karena sesungguhnya Aisyah pernah menceritakan kepadaku bahwa dia mendengar Nabi shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Sesungguhnya habbatus sauda' ini adalah obat dari segala macam penyakit kecuali saam." Aku bertanya; "Apakah saam itu?" beliau menjawab: "Kematian."(HR. Bukhari: 5255).

Bagian habbatussauda yang berkhasiat adalah kandungan kimia dalam bijinya. Kandungan kimia habbatussauda antara lain minyak lemak, minyak atsiri, simena, d-limonene, glikosida, saponin, jigelin, nigelon, dan *Thymoquinone* (Junaedi et al., 2011). Komponen utama dalam biji habbatussauda yaitu *Thymoquinone* (lebih dari 50%). *Thymoquinone* adalah suatu zat aktif dalam habbatussauda yang mempunyai fungsi proteksi ginjal

dan hati terhadap toksisitas, berperan sebagai antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, dan melindungi sel tubuh dari stress oksidasi serta menekan produksi radikal bebas (Oktaria et al., 2019).

Penelitian El Syeikh pada tikus yang diberi *Thymoquinone* 10 mg/kg dan diinduksi methotrexat 20 mg/kg dosis tunggal menunjukkan hasil fungsi ginjal yang meningkat dan perbaikan gambaran histologi ginjal dibandingkan pemberian methotrexat saja. Penggunaan profilaksis *Thymoquinone* memberikan efek protektif terhadap toksisitas hepatorenal akibat pemberian methotrexat melalui mekanisme antioksidasi, antinutritif, anti-inflamasi, dan anti apoptosis (El-Sheikh et al., 2015). Pada penelitian yang dilaksanakan oleh Rika Oktaria dkk memperlihatkan hasil bahwa *Thymoquinone* dengan dosis 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB memberi efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal yang diberi rifampisin, tetapi peningkatan dosis *Thymoquinone* tersebut tidak menunjukkan efek protektif yang jauh berbeda (Oktaria et al., 2019). Suspensi air serbuk biji *Nigella Sativa* memberikan efek perlindungan pada ginjal tikus Albino jantan yang diinduksi Rifampicin. Efeknya yaitu dengan menurunkan kadar urea, kreatinin serum, dan asam urat yang terjadi peningkatan setelah diinduksi Rifampicin (Al-azzawi & Baraaj, 2018). Minyak *Nigella sativa* mencegah peningkatan tekanan darah sistolik pada tikus yang diberi L-NAME. Efek antihipertensi minyak *Nigella sativa* dimediasi oleh penurunan curah jantung, stres oksidatif dan aktivitas enzim pengubah angiotensin, peningkatan aktivitas heme oksigenase-1 jantung dan

pengecahan kehilangan oksida nitrat plasma. Minyak habbatussauda memiliki efek antioksidan dan dapat berkontribusi pada pengurangan tekanan darah (Jaarin et al., 2015)



Gambar 2.1. Biji dan bunga jintan hitam

2.5. Irbesartan

Obat golongan ARB dan ACE merupakan salah satu terapi awal terhadap kondisi hipertensi seperti gagal jantung, diabetes, penyakit ginjal kronik, infark miokard. ARB lebih banyak dipilih karena memiliki efek samping yang rendah daripada antihipertensi lainnya. Pemberian Irbesartan dengan dosis 2,7 mg atau sama dengan 13,5 mg/KgBB terhadap tikus dengan berat 200 gram dapat menurunkan tekanan darah terhadap tikus hipertensi akibat pemberian penginduksi kombinasi prednison dan NACL (Harmely et al., 2018). Golongan obat penghambat reseptor angiotensin II merupakan penghambat yang lebih selektif dibandingkan obat penghambat ACE karena tidak mempunyai efek terhadap metabolisme bradikinin. Obat golongan ARB mempunyai mekanisme kerja dengan cara menghambat langsung angiotensin secara menyeluruh, dibandingkan dengan golongan ACE karena masih ada enzim lain yang bisa mengaktifkan angiotensin I

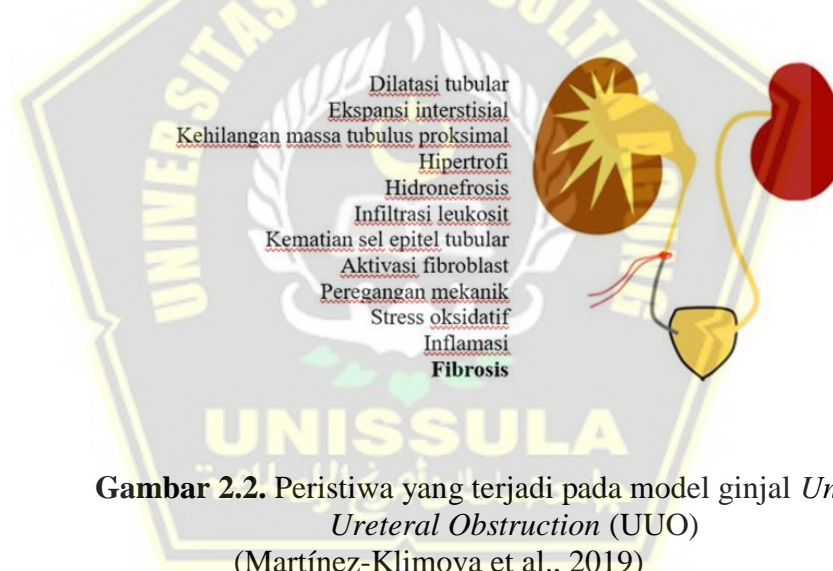
menjadi angiotensin II, sehingga angiotensin II masih bisa bekerja (Benowitz, 2007). ACE meningkatkan produksi angiotensin II dari angiotensin I, yang memiliki vasokonstriktor langsung mempengaruhi pembuluh darah yang mengakibatkan peningkatan tekanan darah. Hipertensi termasuk faktor risiko utama untuk penyakit kardiovaskular, serebrovaskular serta penyakit ginjal (Jaarin et al., 2015).

Selain berperan dalam penurunan tekanan darah, Irbesartan mempunyai efek renoprotektif dengan mengurangi terjadinya stress oksidatif, fibrosis ginjal, cedera glomerulus melalui penghambatan infiltrasi makrofag dan transisi epitel mesenkim. Irbesartan meningkatkan level serum dan ekspresi protein HGF di ginjal dan jantung. Peningkatan HGF oleh karena aksi agonistik PPAR γ dan blokade AT1R. Penelitian yang dilakukan Hiroshi, dkk menunjukkan bahwa irbesartan memiliki efek antifibrotik melalui jalur PPAR γ -HGF yang tidak bergantung pada blokade AT1R terhadap fibrosis ginjal tikus akibat pengobatan NaCl 1% dan infus aldosteron selama 1 bulan (Kusunoki et al., 2013). Irbesartan memiliki efek renoprotektif dalam redaman nefrotoksisitas akut melalui pengurangan stress oksidatif dan peningkatan aktivitas antioksidan pada tikus yang diinduksi gentamisin dan juga melalui peningkatan fungsi podosit dan pengurangan peradangan ginjal. Selain itu, irbesartan menghambat faktor pertumbuhan TGF- β 1 yang merupakan salah satu mediator kerusakan ginjal melalui peningkatan regulasi PPAR γ yang juga meningkatkan status antioksidan ginjal (Al-Kuraishy et al., 2019)

2.6. *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)*

Unilateral Ureteral Obstruction (UUO) adalah model fibrosis ginjal pada hewan coba yang banyak digunakan karena tidak ada efek toksik dan memberi efek minimal terhadap lingkungan uremik. Fibrosis ginjal merupakan jalur akhir dari penyakit ginjal progresif yang ditandai dengan peningkatan aktivasi fibroblas, inflamasi, dan apoptosis sel epitel. Peningkatan sel epitel apoptosis akibat UUO dikaitkan dengan peningkatan ekspresi mediator inflamasi seperti ICAM-1, MCP-1, dan TLR-4 (Arfian et al., 2016). Ginjal yang terhambat UUO akan mengalami perubahan hemodinamik oleh peregangan mekanis, apoptosis sel epitel, stress oksidatif, dan inflamasi. Stress oksidatif berkontribusi sejak awal dalam perkembangan kerusakan ginjal. Pada model UUO, aktivasi RAS dan peningkatan *Nuclear Factor κ B* (NF- κ B) dapat menurunkan regulasi ekspresi Nrf2 dalam ginjal tikus. Aktivasi RAAS sebagai penginduksi dalam peningkatan produksi ROS oleh Nox dan penekanan Nrf2. Selain itu, aktivasi RAAS merangsang produksi faktor yang memicu migrasi leukosit dan proses inflamasi yaitu TGF- β 1, TNF- α , MCP-1, VCAM-1 dan NF- κ B. Sebagai akibat dari stress oksidatif, aktivasi RAAS dan stimulasi oleh sitokin, faktor transkripsi NF- κ B berpindah ke nukleus, dimana dimulainya transkripsi gen target oleh NF- κ B yang menyebabkan inflamasi dan fibrosis (Martínez-Klimova et al., 2019). UUO pada tikus menyebabkan iskemia ginjal dan hipoksia yang akan menyebabkan inflamasi interstisial dan fibrosis tubulointerstitial, sehingga mengakibatkan kehilangan fungsi ginjal

yang progresif dan irreversibel yang menuju penyakit ginjal stadium akhir. Cedera awal pada onset akut obstruksi ginjal pada UUU menyebabkan perubahan pada laju filtrasi glomerulus, aliran darah ginjal, dan edema interstisial. Obstruksi berkepanjangan dalam UUU mengakibatkan perkembangan hidronefrosis, atrofi ginjal, interstisial fibrosis, dan akhirnya disfungsi ginjal. Ginjal memainkan peran penting dalam modifikasi metabolisme produk akhir glikasi lanjutan (AGEPs) dan mengatur produksi ROS. Saat fungsi ginjal telah menurun, retensi AGEPs dan pro-oksidan akan memicu kerusakan oksidatif yang akan berkontribusi pada aktivasi sel mononuklear dan stimulasi respon inflamasi (Susanto et al., 2019).



Gambar 2.2. Peristiwa yang terjadi pada model ginjal *Unilateral Ureteral Obstruction (UUO)* (Martínez-Klimova et al., 2019)

2.7. Pengaruh Kombinasi Madu dan Habbatussauda terhadap Penyakit Ginjal Kronik

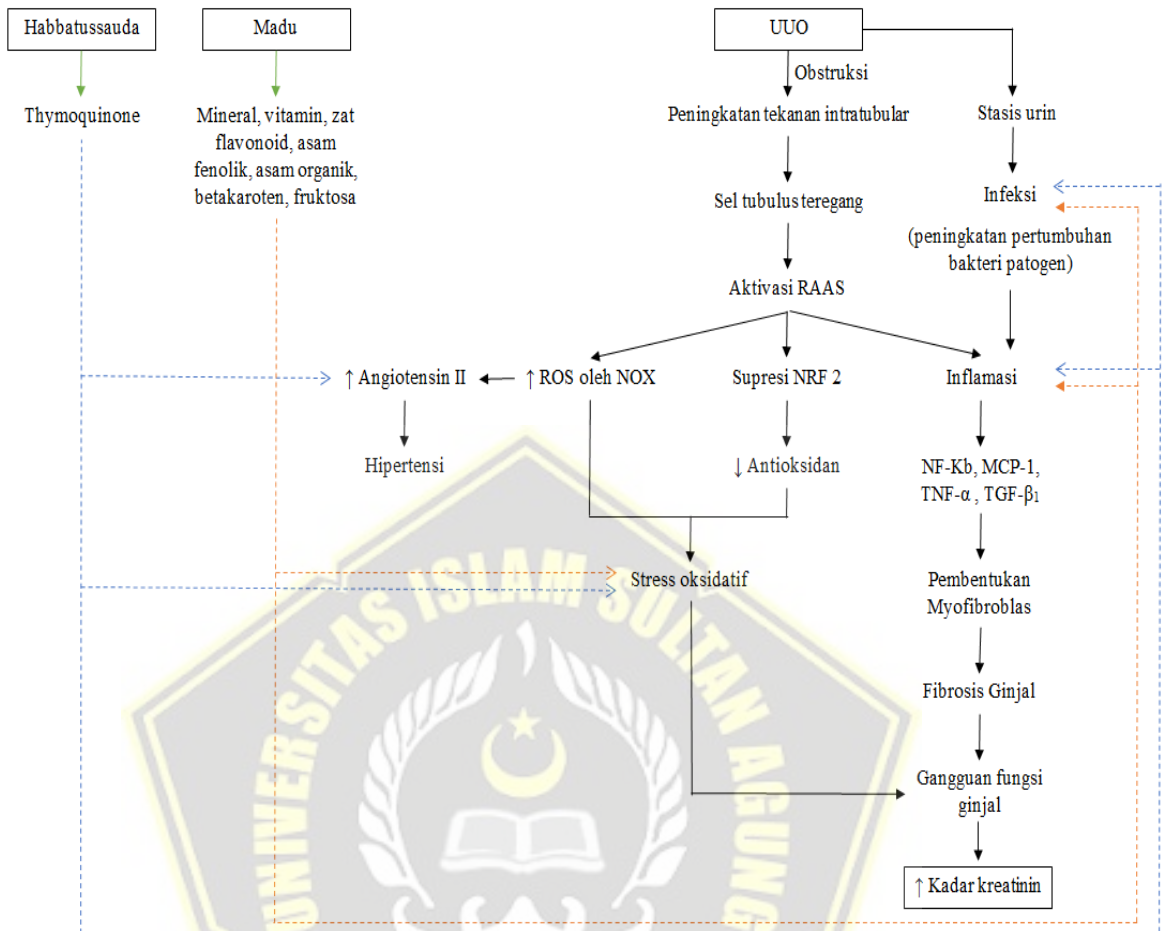
Madu memiliki kandungan asam fenolik, asam organik, flavonoid, vitamin dan mineral yang berperan sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan ginjal. Antioksidan fenolik dalam madu dapat menambah

ketahanan tubuh terhadap stress oksidatif. Madu juga terbukti menurunkan kadar kreatinin pada tikus yang diberi alkohol. Perbaikan kreatinin setelah di beri madu dengan dosis 1,35 mL/tikus/hari selama 2 minggu menunjukkan rerata 0,88 mg/dl turun menjadi 0,74 mg/dl (Asfur & Sadewo, 2019). Kandungan Thymoquinone dalam habbatussauda memiliki fungsi proteksi melawan hepatotoksisitas dan nefrotoksisitas, berperan sebagai antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, dan melindungi sel tubuh dari stress oksidasi serta menekan produksi radikal bebas (Oktaria et al., 2019). Antioksidan yang terkandung dalam madu dan habbatussauda dapat mencegah kerusakan sel dengan cara menetralsir dan memberi elektron pada radikal bebas agar menjadi kurang reaktif dan lebih stabil sehingga dapat terjadi perbaikan sel ginjal (Asfur & Sadewo, 2019). Kombinasi madu dan habbatussauda meningkatkan aktivitas antioksidan 3-4 kali lipat dibandingkan hanya diberi madu atau habbatussauda saja (Alkadri et al., 2019). Tikus model UUO banyak digunakan sebagai model fibrosis tubulointerstitial yang ditandai dengan aktivasi dan pembentukan myofibroblast, serta peningkatan penanda fibrogenesis seperti TGF- β . Fibrosis ginjal merupakan jalur umum penyakit ginjal progresif (Arfian et al., 2016). Stress oksidatif berkontribusi pada perkembangan awal kerusakan ginjal setelah dilakukan UUO. Dalam model UUO, kadar ROS meningkat, serta penanda peroksidase lipid malondialdehid (MDA), produksi anion superoksida dan NAD(P)H oksida. Selain itu, terjadi penurunan antioksidan, serta kadar superoksida dismutase dan katalase. Thymoquinone mempunyai

kandungan thiol ginjal total yang tinggi, aktivitas superoksida dismutase dan katalase yang tinggi, serta penurunan apoptosis akibat UUU. Terdapat kemungkinan bahwa mekanisme kerja thymoquinone yaitu dengan menghambat produksi angiotensin II, sehingga mencegah stress oksidatif (Martínez-Klimova et al., 2019).



2.8. Kerangka Teori



Keterangan =

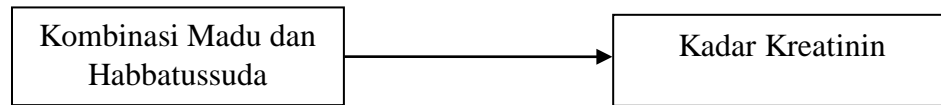
Menyebabkan : →

Menghambat : - - ->

Mengandung : - - ->

Gambar 2.3. Kerangka Teori

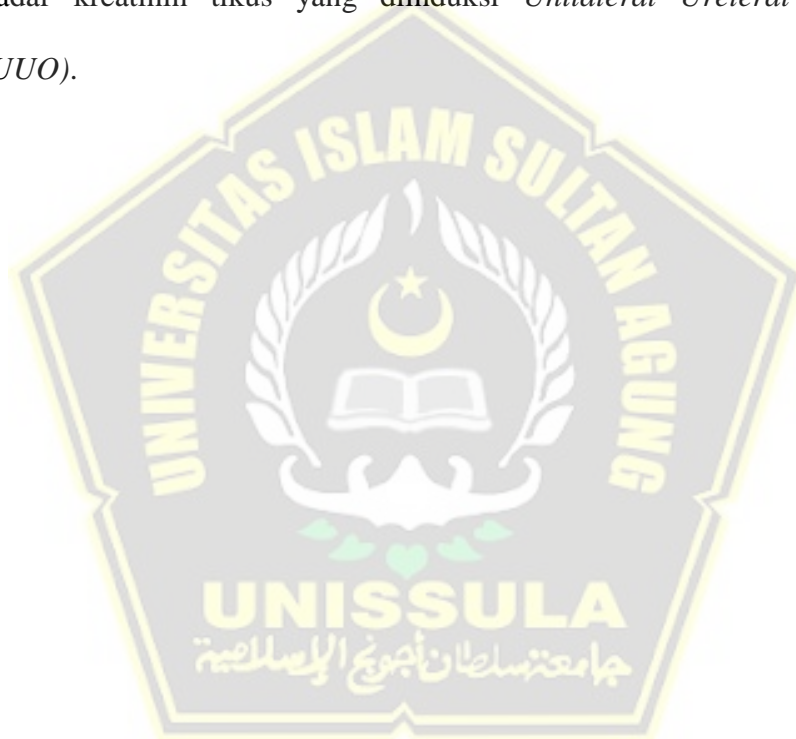
2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep

2.10. Hipotesis

Pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dapat menurunkan kadar kreatinin 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 control group design*”.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

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

3.2.1.2. Variabel Terikat

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

3.2.2. Definisi Operasional

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

Kombinasi madu dan habbatussauda (*Nigella sativa L.*) adalah kombinasi madu multiflora dan minyak habbatussauda yang diberikan secara terpisah. Kombinasi madu dan habbatussauda diberikan pada tikus 1 kali sehari selama 21 hari secara peroral dengan pipet tetes. Terdapat 3 kelompok uji dengan varian kelompok dosis kombinasi madu 0,675 mL/200 grBB/hari dengan pengenceran air

2,025 ml dan habbatussauda 0,3 mL/200 grBB/hari, kelompok dosis kombinasi madu 1,35 mL/200 grBB/hari dengan pengenceran air 1,45 ml dan habbatussauda 0,2 mL/200 grBB/hari, dan kelompok dosis kombinasi madu 2,025 mL/200 grBB/hari dengan pengenceran air 0,875 ml dan habbatussauda 0,1 mL/200 grBB/hari.

Skala data : Ordinal

3.2.2.2. Kadar Kreatinin

Hasil pengukuran kadar kreatinin diambil dari *v. Ophtalmica* tikus putih jantan galur Wistar pada hari ke 22 setelah perlakuan. Penilaian kadar kreatinin menggunakan metode Jaffe Reaction, pada metode ini pengujian kadar kreatinin menggunakan asam pikrat yang berperan untuk mengikat kreatinin sehingga menciptakan warna kuning dan dideteksi dengan alat spektrofotometer.

Skala data : Rasio

3.3. Populasi dan Sampel

Subjek uji penelitian ini adalah tikus putih jantan Galur Wistar yang dipelihara di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Pengambilan subjek uji dalam penelitian dihitung menggunakan rumus Federer dengan 5 kelompok uji.

Perhitungan dengan menggunakan rumus Federer, sebagai berikut :

Rumus Federer

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

n = Jumlah sampel tiap kelompok

t = Jumlah kelompok

Banyak Kelompok : 5 kelompok

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 menggunakan rumus Federer diperoleh hasil 5 ekor tikus per kelompok. Tikus jantan galur Wistar sebanyak 30 ekor dibagi menjadi lima kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor sampel yang dirandomisasi dan ditambahkan 1 ekor tikus untuk menghindari lost to follow up saat pemeliharaan dan penelitian. Sehingga tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

Tikus 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

Kriteria *Drop Out* :

Tikus yang sakit atau mati pada saat penelitian berlangsung.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

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

3.4.2. Bahan Penelitian

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

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pembuatan Ekstrak

3.5.1.1. Minyak Habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

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

3.5.2. Penentuan Dosis

3.5.2.1. Dosis Madu

Penelitian sebelumnya menggunakan dosis madu 1,35 mL/tikus/hari (Asfur & Sadewo, 2019). Untuk menentukan dosis lain menggunakan metode *half dose and double dose* yang mengacu pada dosis penelitian sebelumnya, sehingga penelitian ini menggunakan dosis madu sebanyak 0,675 mL/200 grBB/hari, 1,35 mL/200 grBB/hari, dan 2,025 mL/200 grBB/hari.

3.5.2.2. Dosis Habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

Penelitian sebelumnya menggunakan dosis habbatussauda 1 ml/KgBB (Alkadri et al., 2019) atau sama dengan 0,2 mL/200 grBB/hari. Untuk menentukan dosis lain menggunakan metode *half dose and double dose* yang mengacu pada dosis penelitian sebelumnya, sehingga penelitian ini menggunakan dosis habbatussauda sebanyak 0,5 ml/KgBB (0,1 mL/200 grBB/hari), 1 ml/kgBB (0,2 mL/200 grBB/hari), 2 ml/KgBB (0,4 mL/200 grBB/hari).

3.5.2.3. Dosis Irbesartan

Penelitian sebelumnya menggunakan dosis irbesartan 2,7 mg setara dengan 13,5 mg/KgBB yang diberikan pada tikus putih jantan dengan berat 200 gram (Harmely et al., 2018). Sehingga penelitian ini menggunakan dosis irbesartan 2,7 mL/200 gr/hari.

3.5.3. Pemberian Perlakuan

Tikus diadaptasikan selama 7 hari di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, kemudian dibagi secara randomisasi ke dalam 5 kelompok dengan masing-masing terdiri atas 6 ekor tikus.

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

- a. Tikus dianestesi menggunakan Somnopentyl[®] (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 I

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

pakan standar dan aquadest.

3.5.3.2. Kelompok II

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 III

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

3.5.3.4. Kelompok IV

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

3.5.3.5. Kelompok V

Kelompok uji III sebanyak 6 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquades, metode UUO selama 14 hari, serta kombinasi madu 2,7 mL/200grBB/hari dengan pengenceran air 0,875 ml dan habbatussauda 2,0 ml/KgBB selama 21 hari.

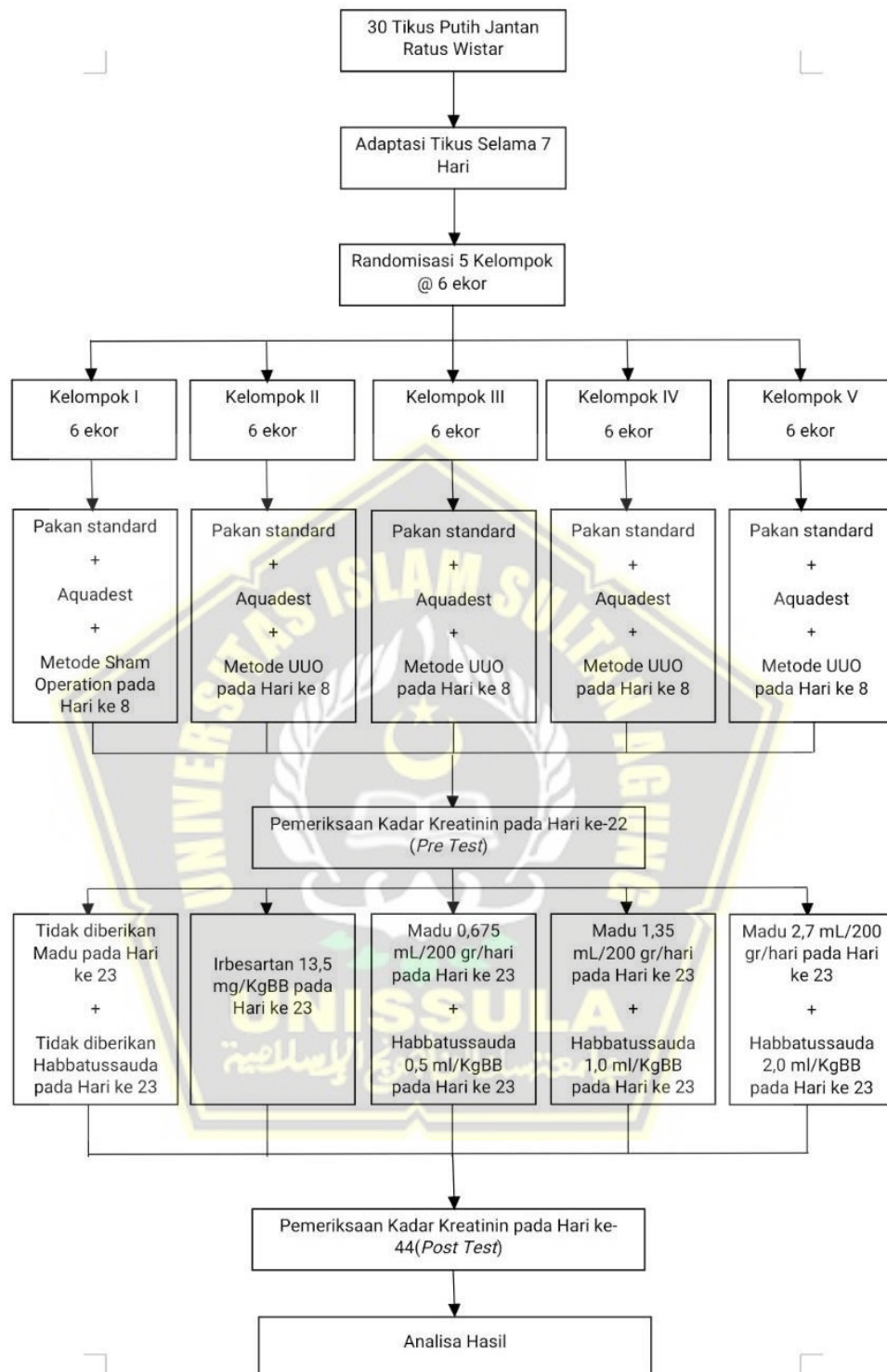
3.5.4. Cara Pengambilan Serum

Tikus dimasukkan ke dalam tabung eter 30-60 detik untuk anestesi. Kemudian dilakukan pengambilan melalui v. Ophtalmica menggunakan mikro hematokrit non heparin. Darah akan ditampung dalam vacutainer bertutup merah sampai volume 3 cc, kemudian dicabut dan swab sisa darah di sudut bola mata. Darah kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga didapatkan serum. Serum dimasukkan ke tabung eppendorf menggunakan mikropipet lalu diberi label.

3.5.5. Cara Pemeriksaan Kadar Kreatinin

Pengukuran kadar kreatinin menggunakan metode reaksi Jaffe. Metode ini menggunakan 2 jenis reagen yang dibuat menjadi monoreagen. Darah tikus yang sudah diambil, lalu dimasukkan dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 15 menit. Kemudian darah disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm dan diambil supernatannya (serum) untuk diperiksa kadar kreatininnya. Serum diinkubasi dahulu selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian serum dan reagen diletakkan dalam kuvet. Perubahan warna yang tampak dibaca dengan panjang gelombang 492 nm.

3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. 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 Gadjah Mada Yogyakarta.

3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama satu bulan dimulai dari 14 Juni 2021 hingga 26 Juli 2021.

3.8. Analisis Hasil

Data hasil pengukuran kadar kreatinin dianalisis menggunakan SPSS. Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan Levene Test. Semua data dinyatakan berdistribusi normal kecuali pada kelompok satu post test dengan hasil $p=0,026$ ($p<0,05$) sehingga dilakukan transformasi menggunakan logaritma atau transformasi kuadrat. Semua data dinyatakan homogen dengan hasil uji Levene Test ($p>0,05$).

Data pre test dan post test dilakukan uji beda > 2 kelompok berpasangan. Data pre test didapatkan berdistribusi normal dan homogen sehingga dilanjutkan uji *One Way Anova* kemudian dilakukan uji Post Hoc dengan Post Hoc Test Equal Variances Assumed LSD. Data post test berdistribusi normal kecuali pada kelompok 1 post test dan tidak homogen. Setelah dilakukan tranfromasi pada kelompok post test data tetap tidak

berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dilanjutkan dengan metode uji non parametrik *kruskal wallis* dan diuji lanjut dengan *Mann Whitney*.



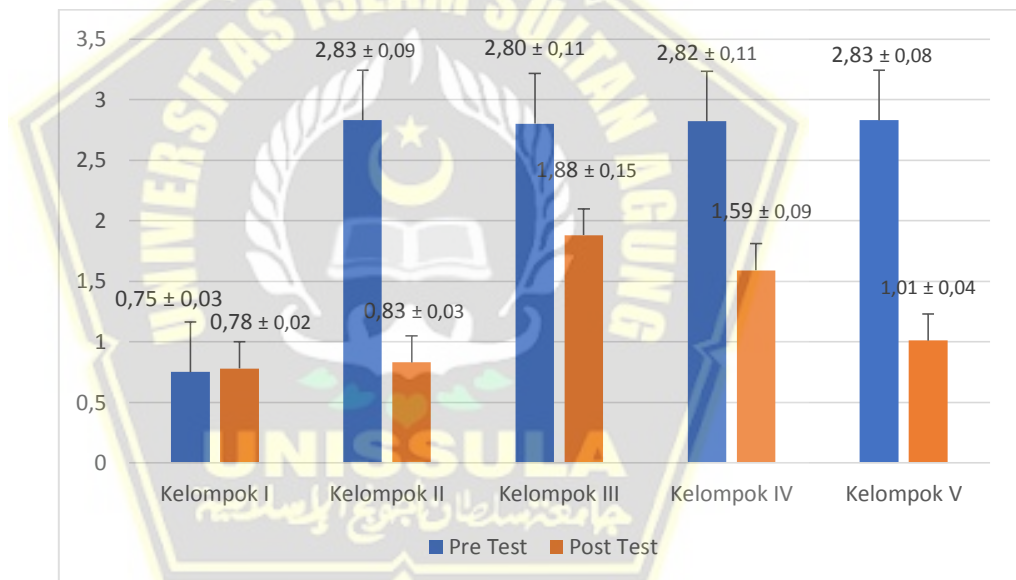
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan subjek uji tikus jantan galur Wistar sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok secara random. Selama penelitian berlangsung tidak ada tikus yang sakit atau mati.

Gambaran kadar kreatinin serum *pretest-posttest* yang diukur dengan metode *Jaffe Reaction* menggunakan spektrofotometer ditunjukkan pada Gambar 4.1. berikut.



Gambar 4.1. Rerata Kadar Kreatinin Serum Pretest-Posttest Antar Kelompok

Berdasarkan Gambar 4.1 tampak bahwa rerata kadar kreatinin serum *pretest* di kelompok I adalah yang terendah, sedangkan pada kelompok II-V tampak lebih tinggi daripada di kelompok I. Kadar kreatinin serum *pretest* dan *posttest* di kelompok I relatif serupa, sedangkan pada kelompok II-V

rerata kadar kreatinin serum *posttest* tampak lebih rendah daripada *pretest*. Hasil kreatinin kelompok I *pretest* dan *posttest* serta kelompok II-V *posttest* masih dalam kisaran normal (kreatinin serum pada tikus Wistar normalnya adalah antara 0,578 – 1,128 mg/dL) (Dewi et al., 2016). Sebaran data kadar kreatinin 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 Analisis Kadar Kreatinin Serum *Pretest* dan *Posttest*

Perlakuan	Kelompok	<i>p-value</i>	
		<i>Shapiro Wilk Test</i>	<i>Levene Test</i>
<i>Pretest</i>	I	0,538*	0,333**
	II	0,657*	
	III	0,203*	
	IV	0,439*	
	V	0,525*	
<i>Posttest</i>	I	0,026	0,015
	II	0,329*	
	III	0,601*	
	IV	0,668*	
	V	0,146*	

Keterangan: * = distribusi normal, ** = varian homogen

Tabel 4.1 menunjukkan distribusi data kadar kreatinin serum *pretest* di kelima kelompok semua normal dan juga memiliki varian homogen ($p > 0,05$), sehingga perbedaan kadar kreatinin serum *pretest* di kelima kelompok dianalisis dengan uji one way anova. Berdasarkan Tabel 4.1 juga diketahui bahwa distribusi data kadar kreatinin serum *posttest* di tiap kelompok hampir semua normal ($p > 0,05$) kecuali di kelompok I ($p < 0,05$) serta memiliki varian yang tidak homogen ($p < 0,05$). Upaya transformasi ke dalam bentuk kuadrat sudah dilakukan, akan tetapi hasil tetap serupa

(distribusi data kelompok I tidak normal dan varian kadar kreatinin serum di kelima kelompok tetap tidak homogen) , sehingga perbedaan kadar kreatinin serum *posttest* di kelima kelompok dianalisis dengan uji Kruskal Wallis.

Tabel 4.2. Hasil Uji Beda Kadar Kreatinin Serum *Pretest* dan *Posttest* Antar Semua Kelompok

Periode pengamatan	Kelompok	Mean Kadar Kreatinin (mg/dL) \pm SD	Uji Beda
<i>Pretest</i>	I	0,75 \pm 0,03	0,000 [^]
	II	2,83 \pm 0,09	
	III	2,80 \pm 0,11	
	IV	2,82 \pm 0,11	
	V	2,83 \pm 0,08	
<i>Posttest</i>	I	0,78 \pm 0,02	0,000 [#]
	II	0,83 \pm 0,03	
	III	1,88 \pm 0,15	
	IV	1,59 \pm 0,09	
	V	1,01 \pm 0,04	

Keterangan: [^] = uji *one way anova*, [#] = uji *kruskal wallis*

Berdasarkan hasil uji beda tersebut didapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) menandakan bahwa kadar kreatinin serum *posttest* di kelima kelompok berbeda bermakna. Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* kadar kreatinin *posttest* didapatkan nilai $p= 0,000$ ($p<0,05$) yang menandakan bahwa kadar kreatinin serum *posttest* di kelima kelompok berbeda bermakna.

Kebermaknaan perbedaan kadar kreatinin serum *pretest* di kelima kelompok dianalisis lebih lanjut dengan uji beda antar dua kelompok menggunakan uji *post hoc* LSD (Tabel 4.3), sedangkan perbedaan kadar kreatinin serum *posttest* diuji dengan uji *Mann Whitney* (Tabel 4.4).

Tabel 4.3. Hasil Uji *Post Hoc* LSD Perbedaan Kadar Kreatinin Serum *Pretest* Antar Dua Kelompok

Kelompok	I	II	III	IV	V
I	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
II	0,000*	-	0,629	0,897	1,000
III	0,000*	0,629	-	0,723	0,629
IV	0,000*	0,897	0,723	-	0,897
V	0,000*	1,000	0,629	0,897	-

Keterangan: * = perbedaan bermakna

Berdasarkan Tabel 4.3 diketahui bahwa perbedaan kadar kreatinin serum *pretest* antar dua kelompok hanya ditunjukkan antara kelompok I dengan kelompok II sampai dengan kelompok V ($p < 0,05$). Hasil tersebut memperlihatkan bahwa perlakuan UUO dapat meningkatkan kadar kreatinin.

Tabel 4.4. Hasil Uji *Mann Whitney* Perbedaan Kadar Kreatinin Serum *Posttest* Antar Dua Kelompok

Kelompok	I	II	III	IV	V
I	-	0,006*	0,004*	0,004*	0,004*
II	0,006*	-	0,004*	0,004*	0,004*
III	0,004*	0,004*	-	0,006*	0,004*
IV	0,004*	0,004*	0,006*	-	0,004*
V	0,004*	0,004*	0,004*	0,004*	-

Keterangan: * = perbedaan bermakna

Berdasarkan Tabel 4.4 diketahui bahwa perbedaan kadar kreatinin serum *posttest* antar dua kelompok semuanya bermakna ($p < 0,05$).

Berikutnya dilakukan uji beda rerata kadar kreatinin serum antara *pretest* dan *posttest* pada tiap kelompok dengan uji t berpasangan yang tercantum pada (Tabel 4.5).

Tabel 4.5. Hasil Uji T Berpasangan Kadar Kreatinin Serum *Pretest* dan *Posttest*

Kelompok	Perlakuan	Kadar Kreatinin (mg/dL)		IK 95%	<i>p-value</i>
		<i>Mean</i> ± SD	<i>Mean difference</i>		
I	<i>Pretest</i>	0,75 ± 0,03	-0,03 ± 0,17	-0,05 s.d - 0,01	0,007
	<i>Posttest</i>	0,78 ± 0,02			
II	<i>Pretest</i>	2,83 ± 0,09	2,00 ± 0,08	1,92 – 2,08	0,000
	<i>Posttest</i>	0,83 ± 0,03			
III	<i>Pretest</i>	2,80 ± 0,11	0,92 ± 0,14	0,77 – 1,07	0,000
	<i>Posttest</i>	1,88 ± 0,15			
IV	<i>Pretest</i>	2,82 ± 0,11	1,23 ± 0,12	1,10 – 1,36	0,000
	<i>Posttest</i>	1,59 ± 0,09			
V	<i>Pretest</i>	2,83 ± 0,08	1,82 ± 0,10	1,71 – 1,92	0,000
	<i>Posttest</i>	1,01 ± 0,04			

Hasil uji T berpasangan pada kelima kelompok tikus diperoleh hasil $p < 0,05$ dan IK tidak melewati nol, sehingga secara statistik terdapat perbedaan rerata kadar kreatinin yang bermakna sebelum dan sesudah dilakukan berbagai perlakuan. Meskipun pada kelompok I hanya terjadi peningkatan 0,03 tetap dikatakan berbeda signifikan sesuai uji t berpasangan dan uji wilcoxon ($p < 0,05$). Kemungkinan hal tersebut terjadi karena faktor inflamasi akibat prosedur sham operation sehingga dapat berpengaruh terhadap kenaikan kadar kreatinin tetapi masih dalam kisaran normal.

4.2. Pembahasan Hasil

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa pembuatan model PGK dengan metode UO berhasil dilakukan. Keberhasilan tersebut tampak dari peningkatan kadar kreatinin serum yang bermakna antara kelompok II-V dibandingkan dengan kelompok I ($p < 0,05$). Hasil ini mendukung temuan penelitian sebelumnya bahwa UO yang dilakukan pada tikus betina Sprague Dawley menyebabkan peningkatan kadar kreatinin serum mulai

dari minggu I sampai dengan minggu IV, dengan peningkatan tertinggi pada minggu IV yaitu sekitar 1,2-1,6 gr/dL (Arifianto *et al.*, 2020).

Kreatinin serum merupakan salah satu dari indikator fungsi ginjal (Martínez-Klimova *et al.*, 2019). Kadar kreatinin serum yang tinggi mengindikasikan terganggunya fungsi ginjal (Suryawan *et al.*, 2017). Metode UUO dapat merepresentasi kondisi PGK karena UUO dapat menyebabkan kerusakan ginjal secara ipsilateral maupun kontralateral. Proses pembersihan kreatinin terjadi di glomerulus, yang tergantung pada laju filtrasi glomerulus (LFG) dan kondisi ginjal. Kerusakan ginjal yang terjadi akibat UUO menyebabkan hidronefrosis kronik sehingga LFG menurun karena adanya tekanan balik urin yang mengenai glomerulus. Peristiwa tersebut menyebabkan kreatinin tidak terekskresi oleh urin melainkan kembali ke darah sehingga kadar kreatinin meningkat (Abdelhakiem *et al.*, 2011; Arifianto *et al.*, 2020). *Unilateral ureteral obstruction* menyebabkan peningkatan kadar kreatinin melalui mediasi azotemia renal dan azotemia post renal secara bersamaan. Renal azotemia terjadi saat fungsi glomerulus menurun sedangkan azotemia post renal terjadi ketika aliran urin terhambat. Urin akan kembali ke ginjal sehingga komponen non protein nitrogen serta berbagai toksin kembali masuk dalam aliran darah (Arifianto *et al.*, 2020).

Ginjal yang terhambat UUO akan mengalami perubahan hemodinamik oleh peregang mekanis, hidronefrosis, stress oksidatif, dan inflamasi. Stress oksidatif berkontribusi sejak awal dalam perkembangan kerusakan

ginjal. Pada model UUO, aktivasi RAAS sebagai penginduksi dalam peningkatan produksi ROS oleh Nox dan supresi Nrf2. Selain itu, aktivasi RAAS merangsang produksi faktor yang memicu migrasi leukosit dan proses inflamasi seperti TGF- β 1, TNF- α , MCP-1, VCAM-1 dan NF- κ B (Martínez-Klimova et al., 2019). ROS merupakan media untuk terjadinya hipertensi jalur angiotensin II dengan mekanisme patofisiologi yang kompleks seperti inflamasi, remodelling, kalsifikasi, dan atherosklerosis (Susanto et al., 2019).

Kadar kreatinin serum tikus putih jantan galur Wistar *posttest* di kelompok I adalah sebesar 0,78 mg/dL hampir sama dengan kadar kreatinin serum *pretest* (0,75 mg/dL). Hasil ini menunjukkan bahwa kadar kreatinin serum pada kelompok tanpa perlakuan tidak berubah, dan kadar kreatinin di kelompok ini bisa dijadikan sebagai standar kadar kreatinin serum normal untuk tikus putih jantan galur Wistar. Menurut penelitian terdahulu kadar kreatinin serum pada tikus Wistar normalnya adalah antara 0,578 – 1,128 mg/dL (Dewi et al., 2016). Penelitian Gregorini *et al.* (2016) juga memperlihatkan bahwa kadar kreatinin serum pada 7 dan 14 hari pada kelompok sham juga relatif serupa.

Kadar kreatinin serum tikus putih jantan galur Wistar *posttest* di kelompok II adalah sebesar 0,83 mg/dL menurun sebesar 2 mg/dL dari kadar kreatinin serum *pretest* (2,83 mg/dL). Hasil ini memperlihatkan bahwa pemberian irbesartan menyebabkan penurunan kadar kreatinin serum pada kelompok tikus jantan galur Wistar model GGK melalui UUO. Irbesartan

merupakan golongan ARB yang diindikasikan untuk hipertensi esensial dan penyakit ginjal pada pasien hipertensi serta diabetes mellitus tipe 2 (Ferdinand, 2010). Efek irbesartan dalam menurunkan kadar kreatinin ini relevan dengan temuan penelitian sebelumnya bahwa pemberian irbesartan dapat meningkatkan fungsi ginjal pada mencit db/db diabetik yang salah satunya ditunjukkan dengan penurunan kadar kreatinin serum (Wang *et al.*, 2015). Mekanisme penurunan kadar kreatinin oleh irbesartan terjadi melalui penghambatan aktivitas angiotensin II melalui perantara reseptor angiotensin 1 (AT1) (Destiani *et al.*, 2016). Penghambatan aktivitas RAS dapat meminimalkan hipoksia jaringan ginjal sehingga menghambat progresifitas CKD (Liu *et al.*, 2017). Irbesartan memiliki efek renoprotektif dalam redaman nefrotoksisitas akut melalui pengurangan stress oksidatif dan peningkatan aktivitas antioksidan pada tikus yang diinduksi gentamisin dan juga melalui peningkatan fungsi podosit dan pengurangan peradangan ginjal (Al-Kuraishy *et al.*, 2019).

Penggunaan kombinasi madu dan habbatussauda dalam berbagai variasi dosis berpengaruh menurunkan kadar kreatinin serum pada tikus model PGK dengan metode UUO. Kombinasi madu dan habbatussauda pada penelitian ini poten untuk dikembangkan dalam terapi pencegahan PGK. Pada penelitian sebelumnya yang menggunakan model nefrotoksisitas melalui induksi cisplatin, pemberian madu dapat memperbaiki fungsi ginjal melalui mekanisme penghambatan inflamasi dan stres oksidatif. Mekanisme tersebut diperankan oleh senyawa-senyawa antioksidan seperti flavonoid,

asam fenolik, asam askorbat, zat seperti karotenoid, asam organik dan produk reaksi Maillard. Perbaikan fungsi ginjal ditunjukkan dengan penurunan kadar serum kreatinin (Hamad *et al.*, 2015). Metode UUO juga melibatkan inflamasi dan stress oksidatif, sehingga mekanisme madu dalam memperbaiki fungsi ginjal dapat dianalogikan dengan mekanisme madu dalam memperbaiki nefrotoksisitas akibat induksi cisplatin. Pada jalur inflamasi, madu mengubah infiltrasi neutrofil melalui penghambatan ekspresi sitokin-sitokin proinflamasi (IL-1 β , IL-6, TNF- α), kemokin (MCP-1) dan perlekatan molekul (ICAM-1) dan meningkatkan ekspresi gene antiinflamasi domain protein *activated microglia/ macrophage* WAP (AMWAP). Pada jalur penghambatan stres oksidatif, pemberian madu berperan dalam menghambat aktivasi NF- κ B oleh oksidan-oksidan seperti superoksida dan hidrogen peroksida (Hamad *et al.*, 2015).

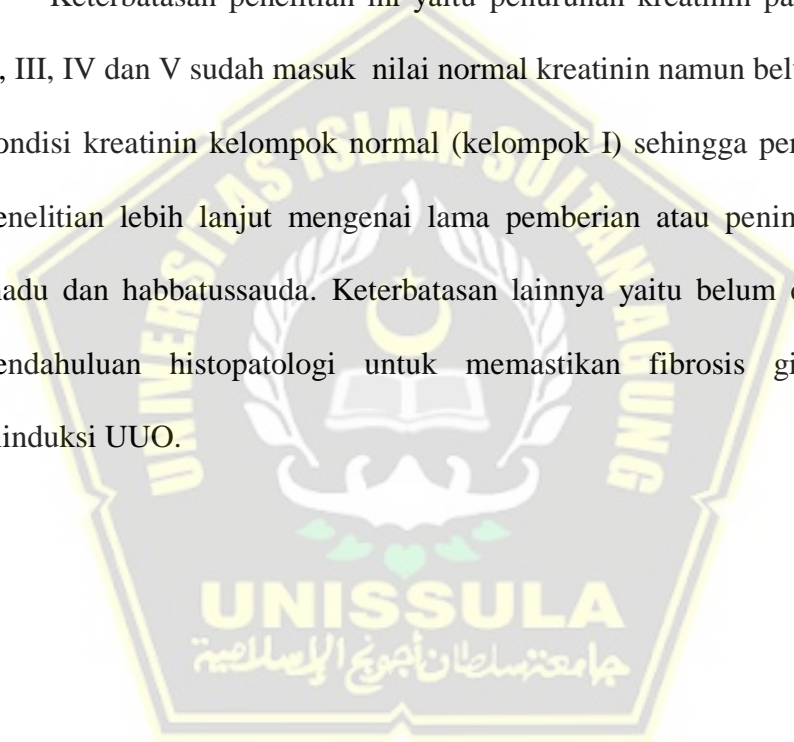
Habbatussauda atau yang juga dikenal sebagai jintan hitam (*Nigella sativa*) menurunkan kadar kreatinin serum melalui beberapa mekanisme meliputi antiinflamasi, antioksidan, anti apoptosis, antifibrosis. Mekanisme-mekanisme tersebut menghasilkan perbaikan fungsi ginjal yang diperankan oleh senyawa penting di dalam habbatussauda yaitu *thymoquinone* (TQ). Pada jalur inflamasi TQ terkait dengan pensinyalan NF- κ B, jalur antioksidan berkaitan dengan kemampuan TQ dalam menangkal radikal bebas, pada jalur antiapoptosis TQ berkaitan dengan jalur caspase, sedangkan pada jalur antifibrosis berhubungan dengan pensinyalan TGF- β (Hannan *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini zat-zat aktif dalam madu dan habbatussauda menunjukkan efek sinergis dalam memperbaiki fungsi ginjal yang ditunjukkan dengan penurunan kadar kreatinin serum yang bermakna. Efek penurunan kadar kreatinin serum memperlihatkan pola *dose dependent manner*, dosis kombinasi madu dan habbatussauda yang lebih tinggi menghasilkan penurunan kadar kreatinin serum yang secara bermakna juga lebih tinggi. Semakin tinggi dosis madu dan habbatussauda, semakin menurun kadar kreatininnya. Pada kelompok V memberikan efek penurunan kadar kreatinin serum yang lebih superior dibandingkan dengan dua dosis lainnya (kelompok III dan IV). Hasil ini disebabkan karena dosis yang lebih tinggi memiliki kandungan senyawa aktif yang juga lebih tinggi. Efek sinergis dari penggunaan madu dan habbatussauda selama 21 hari juga telah ditunjukkan dalam penelitian sebelumnya pada tikus Wistar model nefrotoksisitas akibat induksi cisplatin dalam menurunkan tingkat stres oksidatif yang direpresentasi dengan penurunan kadar malondialdehid (MDA) ginjal (Noviana *et al.*, 2020).

Penurunan kadar kreatinin serum posttest di kelompok III dan IV masih belum sesuai dengan kadar kreatinin dalam kondisi normal, hasil ini diduga karena dosis yang digunakan belum tercukupi. Sedangkan pemberian irbesartan sebagai ARB, serta pemberian kombinasi madu dosis 2,7 mL/200grBB/hari dan habbatussauda 2,0 ml/kgBB dapat menurunkan kadar kreatinin serum hingga di kisaran normal (0,578 – 1,128 mg/dL), meskipun kadar kreatinin serum posttest antara kelompok II dan V secara bermakna

masih lebih tinggi daripada di kelompok I ($p < 0,05$). Hasil tersebut mungkin disebabkan karena durasi pengobatan dengan obat/bahan-bahan tersebut yang kurang lama. Penelitian sebelumnya oleh Dollah *et al.* (2013) menyebutkan bahwa pemberian habbatussauda dalam dosis tinggi sekalipun (1 g/kgBB) selama 5 (lima) minggu pada tikus Sprague-Dawley tidak menghasilkan efek toksik pada fungsi ginjal karena kadar kreatinin serum yang dihasilkan tetap di kisaran normal.

Keterbatasan penelitian ini yaitu penurunan kreatinin pada kelompok II, III, IV dan V sudah masuk nilai normal kreatinin namun belum mencapai kondisi kreatinin kelompok normal (kelompok I) sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai lama pemberian atau peningkatan dosis madu dan habbatussauda. Keterbatasan lainnya yaitu belum dilakukan uji pendahuluan histopatologi untuk memastikan fibrosis ginjal setelah diinduksi UUO.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- 5.1.1. Kombinasi madu dan habbatussauda menurunkan kadar kreatinin pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).
- 5.1.2. Rata-rata kadar kreatinin tikus putih jantan galur Wistar pada kelompok *sham operation* adalah sebesar 0,78 mg/dL.
- 5.1.3. Rata-rata kadar kreatinin tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan diberi irbesartan 13,5 mg/kgBB adalah sebesar 0,83 mg/dL.
- 5.1.4. Rata-rata kadar kreatinin tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) dan pada kelompok 1 setelah diberi kombinasi madu 0,675 mL /200 grBB/hari dan habbatussauda 0,5 ml/KgBB adalah sebesar 1,88 mg/dL. Kadar kreatinin pada kelompok 2 setelah diberi kombinasi madu 1,35 mL /200 grBB/hari dan habbatussauda 1,0 ml/KgBB adalah sebesar 1,59 mg/dL. Kadar kreatinin pada kelompok 3 setelah diberi kombinasi madu 2,7 mL/200 grBB/hari dan habbatussauda 2,0 ml/KgBB adalah sebesar 1,01 mg/dL

5.1.5. Terdapat pengaruh dari Perbedaan dosis kombinasi madu dan habbatussauda berpengaruh pada penurunan kadar kreatinin tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi Unilateral Ureteral Obstruction (UUO).

5.2. Saran

Berdasarkan keterbatasan penelitian maka saran untuk penelitian selanjutnya adalah:

5.2.1. Meneliti pengaruh lama pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar kreatinin pada tikus Wistar model PGK menggunakan metode UUO.

5.2.2. Meneliti pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dengan tingkatan dosis yang lebih tinggi terhadap kadar kreatinin pada tikus Wistar model PGK menggunakan metode UUO.

5.2.3. Meneliti pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dengan uji pendahuluan histopatologi pada tikus Wistar model PGK menggunakan metode UUO.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhakiem, M., Abd Ellah, M. R., Youssef, H. A., Saleh, A. S., & Hassanein, K. M. A. (2011). Effect of Unilateral Ureteral Ligation on Blood Constituents, Renal Histopathology and Ultrasonography in Dogs. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(3), 356–364. <https://doi.org/10.3923/javaa.2011.356.364>
- Al-azzawi, A. F. S., & Baraaj, A. H. (2018). Histological and Biochemical Study of Female Albino Rats Treated With Lamotrigine. *Biochemical and Cellular Archives*, 18(1), 153–159.
- Al-Kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., & Al-Naimi, M. S. (2019). Renoprotective effect of irbesartan in a rat model of gentamicin-induced nephrotoxicity: Role of oxidative stress. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(03), 200–205. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_136_18
- 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.46354>
- 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.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. (2019). *Laporan Nasional RKD2018* (p. 171). Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. http://labdata.litbang.kemkes.go.id/images/download/laporan/RKD/2018/Laporan_Nasional_RKD2018_FINAL.pdf
- Benowitz, N. L. (2007). Farmakologi Dasar dan klinik. *Farmakologi Dasar Dan Klinik*, 161–163.

- Butar-butar, A., & Siregar, C. T. (2012). Karakteristik Pasien Dan Kualitas Hidup Pasien Gagal Ginjal Kronik Yang Menjalani Terapi Hemodialisa. *Jurnal Keperawatan Klinis*, 4(1).
- Depkes. (2017). *InfoDATIN Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI: Situasi Penyakit Ginjal Kronis*. 1–10. www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/infodatin/
- Destiani, D. P., Rina S, Eli H, Ellin F, & Syahrul N. (2016). Evaluasi Penggunaan Obat Antihipertensi pada Pasien Rawat Jalan di Fasilitas Kesehatan Rawat Jalan pada Tahun 2015 dengan Metode ATC/DDD. *Farmaka*, 14(2), 19–25.
- Dewi, P. R. P., Hairrudin, & Normasari, R. (2016). Pengaruh Stres Fisik terhadap Kadar Kreatinin Serum Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4(2), 218–221.
- Dollah, M. A., Parhizkar, S., & Izwan, M. (2013). Effect of *Nigella sativa* on the kidney function in rats. *Avicenna J Phytomed*, 3(2), 152–158. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00356-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00356-2)
- El-Sheikh, A. A. K., Morsy, M. A., Abdalla, A. M., Hamouda, A. H., & Alhaider, I. A. (2015). Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate-induced toxicity in rats. *Mediators of Inflammation*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/859383>
- Ferdinand, K. C. (2010). A Review of the Antihypertensive and Renal-protective Effects of Irbesartan. In *US Cardiology Review* (Vol. 7, Issue 2, pp. 25–33). <https://doi.org/10.15420/usc.2010.7.2.25>
- Gregorini, M., Corradetti, V., Rocca, C., Pattonieri, E. F., Valsania, T., Milanese, S., Serpieri, N., Bedino, G., Esposito, P., Libetta, C., Avanzini, M. A., Mantelli, M., Ingo, D., Peressini, S., Albertini, R., Canton, A. D., & Rampino, T. (2016). Mesenchymal stromal cells prevent renal fibrosis in a rat model of unilateral ureteral obstruction by suppressing the renin-angiotensin system via HuR. *PLoS ONE*, 11(2), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148542>
- Hamad, R., Jayakumar, C., Ranganathan, P., Mohame, R., El-Hamarny, M. M. I., Dessouki, A. A., Ibrahim, A., & Ramesh, G. (2015). Honey feeding protects kidney against cisplatin nephrotoxicity through suppression of inflammation. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 42(8), 843–848. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12433>
- Hannan, M. A., Zahan, M. S., Sarker, P. P., Moni, A., Ha, H., & Uddin, M. J. (2021). Protective effects of black cumin (*Nigella sativa*) and its bioactive constituent, thymoquinone against kidney injury: An aspect on

- pharmacological insights. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(16), 99078. <https://doi.org/10.3390/ijms22169078>
- 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>
- Ihsan, M. (2016). Pengobatan ala Rasulullah SAW sebagai Pendekatan Antropologis dalam Dakwah Islamiah di Desa Rensing Kecamatan Sakra Barat. *Palapa*, 4(2), 152–210. <https://doi.org/10.36088/palapa.v4i2.32>
- Innike, P., Imam, B., & Nyoman, S. (2014). Hubungan Kadar Kreatinin Dengan Formula Hoge (Hematocrit, Urea, Gender) Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronik. 36(September).
- Istiani, N. A. (2018). Analisis Kualitas Madu Yang Beredar di Kota Semarang Berdasarkan Parameter Massa Jenis, Indeks Bias, Dan Tegangan permukaan.
- Jaarin, K., Foong, W. D., Yeoh, M. H., Kamarul, Z. Y. N., Qodriyah, H. M. S., Azman, A., Zuhair, J. S. F., Juliana, A. H., & 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)
- Junaedi, E., Yulianti, S., Suty, S., & Kuncari, emma sri. (2011). *Kedahsyatan Habbatussuda Mengobati Berbagai Penyakit*. AgroMedia Pustaka.
- 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>
- Liu, Z. Z., Bullen, A., Li, Y., & Singh, P. (2017). Renal oxygenation in the pathophysiology of chronic kidney disease. *Frontiers in Physiology*, 8(JUN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00385>
- 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>

- Noviana, R., Ilmiawan, M. I., & Handini, M. (2020). Synergistic Protective Effect of Commercial Nigella Sativa Oil and Honey Combination against Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats Efek Protektif Sinergis Kombinasi Minyak Jintan Hitam (Nigella sativa) Komersial dan Madu terhadap Nefrotoksisitas pada. *Journal Biotek Medisiana Indonesia*, 9(1), 57–66.
- 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 Sprague dawley yang Diinduksi Rifampisin Thymoquinone Protective Effect on Kidney of Sprague dawley Strains White Rats (Rattus norvegicus) Induced*. 6, 80–84.
- Palupi, F. D., Kristianto, Y., Santoso, A. H., Malang, P. K., Besar, J., & No, I. (2015). Pembuatan Formula Enteral Gagal Ginjal Kronik (Ggk) Menggunakan Tepung Mocaf , Tepung Ikan Gabus Dan Konsentrat Protein Kecambah Kedelai. *Jurnal Informasi Kesehatan Indonesia (JIKI)*, 1(1), 42–57. https://www.researchgate.net/publication/308158787_Pembuatan_Formula_Enteral_Gagal_Ginjal_Kronik_GGK_Menggunakan_Tepung_Mocaf_Tepung_Ikan_Gabus_dan_Konsentrat_Protein_Kecambah_Kedelai_Pembuatan_Formula_Enteral_Gagal_Ginjal_Kronik_GGK_Menggunakan_Tepung_Mo
- Parwata, O. A., 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.
- Pongsibidang, G. S. (2016). Risiko Hipertensi, Diabetes, Dan Konsumsi Minuman Herbal Pada Kejadian Gagal Ginjal Kronik Di Rsup Dr Wahidin Sudirohusodo Makassar Tahun 2015. *Jurnal Wiyata Penelitian Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 162–167. <https://ojs.iik.ac.id/index.php/wiyata/article/view/87>
- Price, sylvia anderson. (2012). *patofisiologi : konsep klinis proses-proses penyakit* (H. Hartanto, P. Wulansari, N. Susi, & dewi asih Mahanani (eds.); 6th ed.). EGC.
- Safarsyah, A. I. (2019). Hadis Nabi SAW Tentang Obat Dalam Tinjauan Ilmu Kedokteran Modern. *Al-Dzikra: Jurnal Studi Ilmu Al-Qur'an Dan Al-Hadits*, 12(2), 165–188. <https://doi.org/10.24042/al-dzikra.v12i2.2079>
- Suryawan, D. G. A., Arjani, I. A. M. S., & Sudarmanto, I. G. (2017). Gambaran Kadar Ureum dan Kreatinin Serum pada Pasien Gagal Ginjal Kronis

(GGK) yang Menjalani Terapi Hemodialisis di RSUD Sanjiwani Gianyar. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, 4(2), 145–153. <https://doi.org/10.33992/m.v4i2.64>

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. (2014). *Ilmu Penyakit Dalam Jilid II* (edisi keen). Interna Publishing.

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>

Verdiansyah. (2016). Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CDK*, 43(2), 148–154.

Wang, C., Min, C., Rong, X., Fu, T., Huang, X., & Wang, C. (2015). Irbesartan can improve blood lipid and the kidney function of diabetic nephropathy. *Discovery Medicine*, 20(108), 67–77.

