

**PENGARUH MADU DAN HABBATUSSAUDA TERHADAP  
KADAR HEMOGLOBIN**

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

**Skripsi**

untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar sarjana kedokteran



Disusun Oleh:

**Gita Atiqa Faidiansyah**

**30101800072**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG**

**2023**

**LEMBAR PENGESAHAN  
SKRIPSI**

**PENGARUH MADU DAN HABBATUSSAUDA TERHADAP  
KADAR HEMOGLOBIN**

**Studi Eksperimental Tikus *Rattus Wistar* yang Diinduksi  
*Unilateral Ureteral Obstruction (UO)***

Dipersiapkan dan Disusun oleh :

**Gita Atiq Faidiansyah**

**30101800072**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal 07 Februari 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I

Anggota Tim Penguji I

dr. Ulfah Dian Indravani M.Sc.

dr. Kamilia Dwi Utami M.Biomed

Pembimbing II

Anggota Tim Penguji II

Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes.

dr. Rini Arvani, Sp. OG. K (Fer)

Semarang, 07 Februari 2023

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



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

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Gita Atiqa Faidiansyah

NIM : 30101800072

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“PENGARUH MADU DAN HABBATUSSAUDA TERHADAP  
KADAR HEMOGLOBIN (Studi Eksperimental Tikus *Rattus Wistar* yang  
Diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UO))”**

adalah hasil karya skripsi Saya dan dengan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau Sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 6 Februari 2023

Yang menyatakan,

  
  
  
17FAKX284R59006

Gita Atiqa Faidiansyah

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillahirrabbil'alamin*, segala puji bagi Allah Tuhan Yang Maha Kuasa atas limpahan rahmat, hidayah, dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“PENGARUH MADU DAN HABBATUSSAUDA TERHADAP KADAR HEMOGLOBIN Studi Eksperimental Tikus *Rattus Wistar* yang di Induksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO)”** dengan penuh pertolongan-Nya.

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 yang telah mengizinkan dilaksanakannya penelitian ini.
2. dr. Ulfah Dian Indrayani, M.Sc dan Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
3. dr. Kamilia Dwi Utami M.Biomed dan dr. Rini Aryani , Sp.OG. K (Fer) 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 H. Budi Utomo, S.Kep.,Ns. MM, Ibu Hj Suwarti,Sst., MM, dan Saudari Putri Febriana Rachmawati S.ked beserta Belva Ainun Mahya, yang telah memberikan do'a, kasih sayang, dukungan, fasilitas dan kebahagiaan bagi saya selama masa perkuliahan dan penyusunan Skripsi ini.
6. Hanifah Tiara Putri, 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 Dwi Safitri, Hanifah Tiara Putri, Hilwa Qonita Almazia, Rizma, Rohmia Eka Sutiana, dan Zhania Fitri Febrilia, sahabat-sahabat saya tercinta, yang telah memberikan saya semangat dan tawa saat berjuang bersama untuk melangkah lebih maju dalam perjalanan yang panjang ini.
7. Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang telah membantu saya dalam penulisan dan penyelesaian dari skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran untuk perbaikan di masa mendatang. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita pembaca umumnya dan bagi mahasiswa kedokteran pada khususnya.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Semarang, 03 Februari 2023

  
Gita Atiqa Faidiansyah

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN .....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
BAB IPENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1. Tujuan Umum .....	4
1.3.2. Tujuan Khusus .....	4
1.4. Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis .....	5
1.4.2. Manfaat Praktis .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Hemoglobin.....	7
2.1.1. Pengertian.....	7
2.1.2. Nilai normal .....	7
2.1.3. Faktor yang Mempengaruhi Nilai Hemoglobin .....	8
2.1.4. Kadar Hemoglobin darah pada Gagal Ginjal Kronik.....	12
2.2. Gagal ginjal kronik.....	16
2.2.1. Pengertian.....	16
2.2.2. Etiologi.....	16
2.2.3. Patofisiologi .....	17



2.2.4. Klasifikasi gagal ginjal kronik .....	18
2.3. <i>Unilateral Uretral Obstruction</i> (UUO).....	19
2.4. Irbersartan .....	22
2.2 Madu .....	24
2.5. Habbatussauda.....	26
2.6. Kombinasi Madu dan Habbatussauda terhadap Gagal Ginjal Kronik .....	30
2.7. Kerangka Teori.....	31
2.8. Kerangka Konsep .....	32
2.9. Hipotesis.....	32
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>33</b>
3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	33
3.2. Variabel dan Definisi Operasional .....	33
3.2.1. Variabel Penelitian.....	33
3.2.2. Definisi Operasional.....	33
3.3. Subjek Uji.....	35
3.4. Alat dan Bahan Penelitian.....	36
3.4.1. Alat Penelitian.....	36
3.4.2. Bahan Penelitian.....	36
3.5. Cara Penelitian .....	37
3.5.1. Pembuatan Ekstrak.....	37
3.5.2. Penentuan Dosis.....	37
3.5.3. Pemberian Perlakuan.....	38
3.5.4. Cara Pengambilan Serum.....	42
3.5.5. Cara Pemeriksaan Kadar Hemoglobin .....	42
3.6. Alur Penelitian .....	43
3.7. Tempat dan Waktu Penelitian .....	44
3.7.1. Tempat Penelitian.....	44
3.7.2. Waktu Penelitian .....	44
3.8. Analisis Hasil .....	44
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>45</b>
4.1. Hasil Penelitian .....	45

4.2. Pembahasan.....	51
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>57</b>
5.1. Kesimpulan .....	57
5.2. Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA .....	59
LAMPIRAN.....	68





## DAFTAR SINGKATAN

AI	:	<i>Anemia of Inflammation</i>
eGFR	:	<i>Estimated Glomerular Filtration Rate</i>
EMT	:	<i>Ephitelieal to Mesenchymal Transition</i>
Epo	:	Erithropoietin
ET-1	:	<i>Endotholin-1</i>
GFR	:	<i>Glomerular Filtration Rate</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	:	Hidrogen Peroksida
Hb	:	Hemoglobin
HGF	:	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIV	:	<i>Human Immunodeviciency Virus</i>
HO-1	:	Heme Oksigenase 1
IMT	:	Indeks Masa Tubuh
LFG	:	Laju Filtrasi Ginjal
MCP-1	:	<i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i>
NF-κB	:	<i>Nuclear Factor κB</i>
NQO1	:	NAD(P)H:quinone oksireduktase 1
Nrf2	:	<i>Nuclear Factor (Erythroid-derived 2)-Like 2</i>
p53	:	Tumor Protein 53
PAI-1	:	<i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>
PPAR γ	:	<i>Peroxisome proliferator- activated receptor gamma</i>
ROS	:	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RAS	:	<i>Renin Angiotensin System</i>
TAIM	:	Tradisional Arab dan Islam
TB	:	Tuberkulosis
TGF- β1	:	<i>Transforming Growth Factor β1</i>
TNF-α	:	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TQ	:	Thymoquinone
UUO	:	<i>Unilateral Ureteral Obstruction</i>
VCAM-1	:	<i>Vascular Cell Adhesion Molecule 1</i>

WHO : *World Health Organization*  
Wnt/ $\beta$ -catenin : *Wingless-related integration/  $\beta$ -catenin*



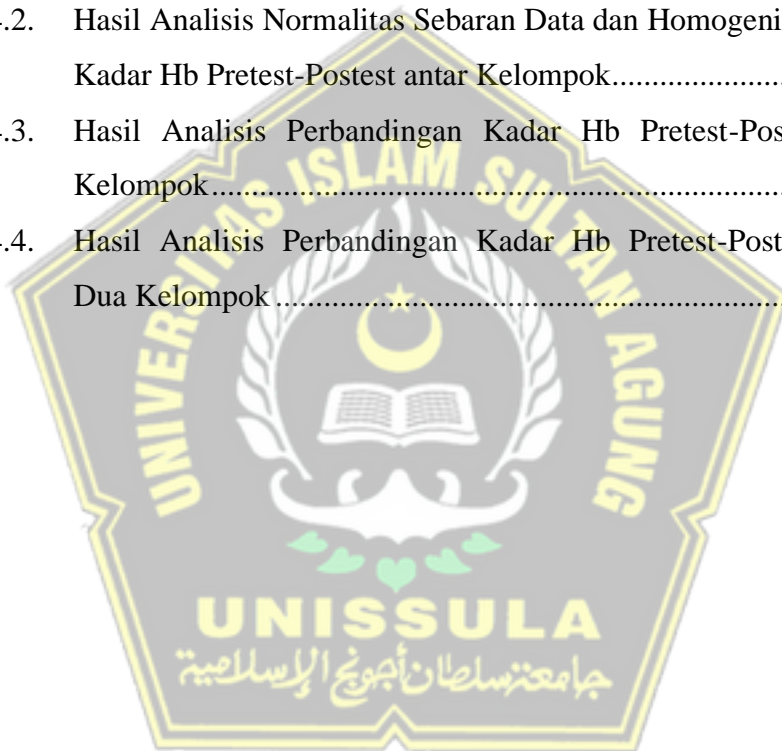
## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Kerangka Teori.....	31
Gambar 2.2. Kerangka konsep.....	32
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	43
Gambar 4.1. Rata-rata dan Standar Deviasi Kadar Hb Pretest dan Posttest. ....	46



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Hubungan Derajat Gagal Ginjal Kronik Dengan Masa Hidup Eritrosit.....	15
Tabel 2.2.	Klasifikasi gagal ginjal kronik berdasarkan derajat penyakitnya ....	18
Tabel 2.3.	Klasifikasi gagal ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi.....	19
Tabel 4.1.	Deskripsi Kadar Hb Pretest-Posttest dan selisihnya antar Kelompok.....	47
Tabel 4.2.	Hasil Analisis Normalitas Sebaran Data dan Homogenitas Varian Kadar Hb Pretest-Posttest antar Kelompok.....	48
Tabel 4.3.	Hasil Analisis Perbandingan Kadar Hb Pretest-Posttest antar Kelompok.....	49
Tabel 4.4.	Hasil Analisis Perbandingan Kadar Hb Pretest-Posttest antara Dua Kelompok.....	50



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Data kadar hemoglobin pretest dan posttest tikus berserta rata-rata.....	65
Lampiran 2.	Deskripsi Kadar Hb Pretest dan Posttest antar Kelompok tikus model UUO .....	67
Lampiran 3.	Normalitas Sebaran Data Kadar Hb Pretest dan Posttest dan Homogenitas Varian Kadar Hb Pretest – Posttest antar Kelompok Tikus model UUO .....	68
Lampiran 4.	Homogenitas Varian Kadar Hb Pretest – Posttest antar Kelompok Tikus model UUO .....	69
Lampiran 5.	Data Hasil Uji One Way Anova Rerata Kadar Hemoglobin Tikus model UUO .....	70
Lampiran 6.	Data Hasil Uji Post Hoc Tests Tamhane's T2 rerata kadar Hemoglobin Tikus.....	71
Lampiran 7.	Hasil Uji Paired T-Test kadar hemoglobin tikus.....	77
Lampiran 8.	<i>Ethical clearance</i> .....	83
Lampiran 9.	Surat Izin Penelitian .....	84
Lampiran 10.	Surat Keterangan Pinjam Laboratorium .....	85
Lampiran 11.	Surat keterangan bebas laboratorium .....	86
Lampiran 12.	Dokumentasi .....	87

## INTISARI

Habbatussauda dan madu telah sejak lama digunakan sebagai obat. Habbatussauda memiliki kandungan zat aktif yang berkhasiat menjadi antioksidan yaitu *thymoquinone*. Madu memiliki kandungan *flavonoid* yang bekerja sebagai antioksidan dan zat besi, vitamin B kompleks, serta asam folat yang bisa meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah. Kombinasi dari madu dan habbatussauda dapat menimbulkan efek sinergis yang meningkatkan efek antioksidan keduanya, sehingga memiliki efek protektif yang lebih besar terhadap ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar hemoglobin pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

Penelitian ini merupakan *pre-post test randomized controlled group design* yang menggunakan tikus putih jantan berjenis *Rattus Wistar* dalam 6 kelompok yang masing masing berisi 5 ekor tikus. Kelompok 1 (*sham operation*), Kelompok 2 (kontrol negatif), Kelompok 3 (Irbersartan 13,5 mg/kgBB/hari), Kelompok 4 (kombinasi madu 0,675 mL/200grBB/hari dan habbatussauda 0,5 mL/KgBB), Kelompok 5 (Madu 1,35 mL/200grBB/hari dan habbatussauda 1,0 mL/kgBB) dan Kelompok 6 (Madu 2,025 mL/200grBB/hari dan habbatussauda 2,0 mL/kgBB/hari). Semua perlakuan diberikan selama 21 hari. Tingkat hemoglobin tikus diukur dengan menggunakan *Hematology analyzer*. Data *pre* dan *post test* dianalisis menggunakan *One Way Anova* dan uji *Post Hoc Tamhane T2*.

Hasil penelitian didapatkan tingkat hemoglobin *pre test* tikus yang melalui tindakan UUO mengalami penurunan, sedangkan hasil *post test* menunjukkan peningkatan tingkat hemoglobin pada tikus yang diberikan kombinasi madu dan habbatussauda.

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda meningkatkan tingkat hemoglobin darah tikus yang diinduksi UUO

**Kata Kunci:** UUO, madu, habbatussauda, hemoglobin



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Fibrosis ginjal merupakan jalur utama untuk sebagian besar dari penyakit ginjal progresif. (Chevalier, Forbes and Thornhill, 2009) Pada gagal ginjal kronis, fibroblas penghasil erithropoietin (Epo) berubah menjadi myofibroblas sehingga tidak mampu memproduksi erithropoietin (Epo) (Meran and Steadman, 2011; Sato and Yanagita, 2022). Produksi erithropoietin yang tidak mencukupi akan mengakibatkan supresi erythropoiesis dan penurunan kadar hemoglobin dalam darah menurun. (Bunn, 2013) Penelitian terdahulu menunjukkan potensi habbatussauda (*Nigella sativa*) dan madu dalam memperbaiki fungsi ginjal (Hosseinian *et al.*, 2018; Erejuwa *et al.*, 2021). Habbatussauda (*Nigella sativa*) memiliki sifat anti anemik. Herba ini mengandung thymoquinone (TQ) yaitu agen antioksidan yang telah dibuktikan dapat meningkatkan kadar erithropoietin (Epo) secara signifikan dan menurunkan hemolisis yang diinduksi oleh stress oksidatif. (Ashour, 2015; El-Shanshory *et al.*, 2019). Madu juga mengandung agen antioksidan seperti asam fenolik dan zat flavonoid yang dapat mencegah kerusakan ginjal akibat stress oksidatif (Asfur and Sadewo, 2019). Madu juga mengandung 0.42 mg zat besi dalam 100 g madu (Maulina and Amalasari, 2018).

Penyakit gagal ginjal kronik diderita oleh lebih dari 10% populasi umum dunia, diperkirakan jumlah total dari pasien gagal ginjal kronis

dengan tingkat 1-5 adalah 843.6 juta orang (Kovesdy, 2022). Global Health Observatory memprediksikan tingkat kematian akibat gagal ginjal kronik akan terus meningkat hingga mencapai angka 14 kematian per 100.000 orang pada tahun 2030. (Webster *et al.*, 2016) WHO memprediksikan akan terjadi peningkatan pasien gagal ginjal kronik di Indonesia sebesar 41,4% pada tahun 1995-2025 (Palupi, 2016). Penduduk usia produktif yang menderita gagal ginjal kronik di Indonesia memiliki prevalensi 3,8%, dengan prevalensi tertinggi di kelompok umur 65-74 tahun dengan prevalensi 0,82% lebih tinggi daripada kelompok umur yang lain (Kementrian Kesehatan RI, 2018).

Anemia dua kali lebih banyak diderita oleh pasien dengan Gagal ginjal kronik (15,4%) dibandingkan dari populasi umum (7,6%). Stauffer (2014) menyatakan sebanyak 22,8% pasien gagal ginjal kronik dengan anemia dilaporkan dirawat karena anemia dalam 3 bulan sebelum penelitian dilaksanakan— 14,6% pasien stadium 1-2 dan 26,4% pasien stadium 3-4. (Stauffer and Fan, 2014) Kondisi anemia renal di Indonesia masih menjadi masalah, terutama karena pemberian eritropoietin belum tercakup dalam pembiayaan hemodialisis yang mencapai 5 juta rupiah pada tahun 2012. Pemakaian program terapi eritropoietin pada pasien hemodialisis meningkat dari tahun 2017 ke 2018 dengan selisih 238.892 pasien. (Indonesian renal Registry, 2012; PERNEFRI, 2018) Tren gagal ginjal kronik pada penduduk usia produktif Indonesia yang cukup tinggi meningkatkan angka kunjungan

ke rumah sakit dan berkurangnya produktivitas, serta peningkatan beban ekonomi bagi keluarga.

Penelitian Nora Maulina dkk. (2018) juga menunjukkan pemberian madu dosis 1,56 microgram/berat badan mencit selama satu minggu dapat meningkatkan kadar hemoglobin dengan kadar hb mencit sebelum perlakuan 13,4 gr/dl, dan sesudah perlakuan mencapai 18,95 gr/dl. (Maulina and Amalasari, 2018) Pemberian habbatussauda (*Nigella sativa L.*) dengan dosis 2ml/Kg berat badan tikus selama 30 hari juga memberikan kenaikan signifikan terhadap kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi dengan  $\text{CdCl}_2$  ( $12 \pm 1.1$  g/dl Hb) dibandingkan dengan tikus yang hanya diinduksi dengan  $\text{CdCl}_2$  saja ( $6 \pm 0.2$  g/dl Hb) dan mendekati kadar Hb tikus yang hanya diberi pakan standart ( $14 \pm 0.8$  g/dl Hb) (Demir, 2006). Peningkatan kadar hemoglobin yang signifikan ( $p < 0,05$ ) juga ditunjukkan dengan tikus yang diberikan perlakuan pemberian ekstrak habbatussauda dengan dosis 1ml/Kg berat badan tikus selama 12 minggu ( $15.4 \pm 0.64$  g/dl Hb) dibandingkan kelompok tikus yang diberikan aquadest. ( $13.12 \pm 1.45$ ). (Zaoui *et al.*, 2002)

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian yang mengkaji efek dari pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar hemoglobin pada tikus model yang diinduksi oleh UUO. Model *unilateral urethral obstruction* (UUO) digunakan untuk memunculkan fibrosis ginjal pada tikus. Ciri utama dari UUO adalah cedera tubulus dikarenakan aliran urin yang terhalangi, UUO dapat menjadi model keadaan nefropati

obstruktif kronik pada manusia dalam jangka waktu yang cepat (Martínez-Klimova *et al.*, 2019). Penilaian dilakukan dengan melakukan pengukuran terhadap kadar hemoglobin masing masing kelompok uji untuk melihat efek kombinasi madu dan habbatussauda dalam mempengaruhi kadar hemoglobin pada tikus model yang diinduksi oleh UUO.

## 1.2. Rumusan Masalah

“Apakah pemberian kombinasi dari madu dan ekstrak habbatussauda (*Nigella sativa L.*) memberikan pengaruh terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi UUO?”

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi dari madu dan ekstrak habbatussauda (*Nigella sativa L.*) terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi UUO.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Mengetahui rata rata kadar hemoglobin pada pada hari ke-22 tikus pasca induksi UUO.

1.3.2.2. Mengetahui kadar hemoglobin tikus pada kelompok yang diberi kombinasi madu dengan dosis 0,675mL/200g berat badan tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 0,3 mL/200g berat badan tikus per hari pasca UUO.

1.3.2.3. Mengetahui kadar hemoglobin tikus pada kelompok yang diberi kombinasi madu dengan dosis 1,35mL/200g berat badan tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 0,2 mL/200g berat badan tikus per hari pasca UUO.

1.3.2.4. Mengetahui kadar hemoglobin tikus pada kelompok yang diberi madu dengan dosis 2,025mL/200g berat badan tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 0,1mL/200g berat badan tikus per hari pasca UUO.

1.3.2.5. Mengetahui dosis optimal dari pemberian madu dan habbatussauda terhadap kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi UUO.

1.3.2.6. Mengetahui perbedaan pengaruh antara dosis dari kombinasi madu dan habbatussauda yang diberikan kepada hemoglobin tikus.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Memberikan dasar pengetahuan mengenai pengaruh kombinasi madu dan habbatussauda (*Nigella sativa L.*) terhadap kadar hemoglobin pada hewan coba model UUO dan masukan bagi peneliti yang ingin melakukan pengembangan penelitian selanjutnya..

#### 1.4.2. Manfaat Praktis

Memberikan informasi pada masyarakat bahwa kombinasi dari madu dan habbatussauda (*Nigella sativa L.*) dapat berpengaruh pada kadar hemoglobin pada penderita gagal ginjal kronik.





## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Hemoglobin**

##### **2.1.1. Pengertian**

Hemoglobin atau Hb dapat ditemukan di dalam sel eritrosit. Sel eritrosit sendiri berasal dari sel hemositoblas yang secara kontinu dibentuk di sumsum tulang. Hemoglobin dalam sel darah merah terdiri dari empat sub unit yang masing masingnya memiliki satu rantai polipeptida dan kelompok heme, susunan ini memungkinkan hemoglobin untuk mengangkut oksigen yang akan terikat ke dalam ion Fe dalam masing masing grup heme. Hemoglobin mengangkut oksigen dari paru paru melalui arteri. Selain oksigen, hemoglobin juga mengangkut karbon dioksida dari tubuh untuk dikeluarkan melalui sistem pernafasan melalui vena. (Marengo-Rowe, 2006)

##### **2.1.2. Nilai normal**

WHO menetapkan nilai normal untuk hemoglobin berbeda sesuai umur dan jenis kelamin, pada wanita dan pria dewasa di atas 15 tahun batas normal hemoglobin masing-masing adalah 12,0 g/dl dan 13,0 g/dl. Pada anak anak usia 0,5-5 tahun kadar normalnya adalah 11,0 g/dl, pada usia 5-12 tahun adalah 11,5 g/dl dan 12-15 tahun adalah <12,0 g/dl. Kadar hemoglobin yang berada di bawah nilai normal disebut anemia. (Atkinson and Warady, 2018)

### 2.1.3. Faktor yang Mempengaruhi Nilai Hemoglobin

#### a. Umur

Kadar normal hemoglobin dalam darah berubah-ubah seiring dengan usia. Pada bayi baru lahir konsentrasi normal hemoglobin adalah antara 17 hingga 21 g/L yang merupakan kadar normal tertinggi selama masa kehidupan manusia. Kadar hemoglobin kemudian menurun selama 2-3 bulan pertama kehidupan, kemudian meningkat lagi selama masa kanak-kanak, tetap statis selama masa dewasa dan kembali menurun saat usia tua. (Chaparro and Suchdev, 2019)

#### b. Gender

Perbedaan kadar hemoglobin dalam darah antara laki-laki dan perempuan dimulai saat pubertas. Wanita yang menstruasi akan mengalami penurunan cadangan zat besi yang menyebabkan anemia (Chaparro and Suchdev, 2019)

#### c. Kehamilan

Selama kehamilan terjadi peningkatan volume darah, terutama plasma, sehingga terjadi efek dilusi darah yang menyebabkan konsentrasi hemoglobin dalam darah menurun pada trimester pertama hingga kedua, dan akan naik lagi pada trimester ketiga. (Chaparro and Suchdev, 2019)

d. Status gizi

Status gizi dapat diukur dengan indeks massa tubuh (IMT), status gizi pasien dipengaruhi oleh kemampuan untuk mendapatkan makanan bergizi, pengetahuan dan akses ke fasilitas terhadap gizi dan kesehatan. Intake nutrisi yang tidak berkecukupan akan menyebabkan defisiensi mikronutrien yang kemudian menurunkan kemampuan tubuh memproduksi eritrosit. *Nutritional anemia* terjadi ketika konsentrasi nutrisi hematopoietic, yaitu nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan untuk memproduksi atau mempertahankan sel darah merah, tidak cukup. Penyebab dari defisiensi termasuk asupan nutrisi yang kurang, hilangnya nutrisi, (sebagai contoh; kehilangan darah akibat parasite, perdarahan karena partus, atau perdarahan menstruasi yang banyak), absorpsi nutrisi yang terganggu, (contoh; tidak adanya faktor intrinsik yang membantu dalam penyerapan vitamin B12, atau adanya infeksi *Helicobacter pylori* yang mengganggu penyerapan zat besi). (Chaparro and Suchdev, 2019)

e. Status ekonomi

Status ekonomi berhubungan dengan status gizi pasien. Status ekonomi yang semakin kurang akan meningkatkan risiko status gizi yang buruk dan kesehatan yang buruk. Keadaan sosio

ekonomi yang buruk diasosiasikan dengan resiko anemia yang besar pada anak-anak dan wanita. (Chaparro and Suchdev, 2019)

f. Frekuensi hemodialisa

Pasien yang lama mengidap gagal ginjal kronik yang menjalani terapi hemodialisa akan banyak kehilangan darah dan zat besi sehingga meningkatkan risiko anemia. (Portolés *et al.*, 2021)

g. Ras

Di Amerika Serikat, pasien kulit hitam cenderung memiliki kadar hemoglobin yang lebih rendah dibandingkan dengan pasien kulit putih. (Atkinson and Warady, 2018)

h. Inflamasi dan infeksi

Banyak penyakit memiliki hubungan dengan anemia. Penurunan hb pada penyakit-penyakit tersebut memiliki mekanisme yang berbeda-beda termasuk kehilangan darah, hemolisis, atau penurunan eritropoiesis, dan melalui pengaruh dari inflamasi terhadap metabolisme zat besi. Penurunan kadar hemoglobin atau anemia yang dikarenakan inflamasi atau AI umumnya merupakan anemia normositik dengan hitung jumlah retikulosit rendah dan konsentrasi hb 8-10 g/L. Inflamasi mengakibatkan perubahan metabolisme zat besi, peningkatan hepcidin yang kemudian memblokir absorpsi dan mobilisasi zat besi, sitokin inflamasi juga mengakibatkan pemendekan

jangka hidup eritrosit, dan menghambat produksi dan fungsi dari Epo. Sedangkan inflamasi bisa terjadi karena infeksi, contohnya virus seperti HIV dan juga bakteri Tuberkulosis (TB) dan koinfeksi antara keduanya. Selain itu infeksi yang bisa menyebabkan anemia pada umumnya adalah infeksi parasit seperti cacing (*Necator americanus* dan *Ancylostoma duodenale*), Schistosomiasis, dan malaria. (Chaparro and Suchdev, 2019)

i. Kelainan hemoglobin genetik

Sekitar 330.000 anak-anak diestimasi lahir tiap tahun dengan kelainan hb genetik (83% lahir dengan *sickle cell* anemia dan 17% dengan *thalassemia*). Pada *sickle cell* anemia, sel darah merah berbentuk bulan sabit yang terjadi karena adanya  $\beta$ -globin chain yang defektif. Sel yang diproduksi memiliki jangka hidup yang lebih pendek sehingga mengakibatkan anemia hemolitik kronis. Sedangkan pada *thalassemia*, ada cacat dalam sintesis satu atau lebih rantai globin yang menyusun Hb;  $\alpha$ -*thalassemia* disebabkan oleh tidak adanya/berkurangnya sintesis rantai  $\alpha$ -globin, dan  $\beta$ -*thalassemia* disebabkan oleh tidak adanya/berkurangnya sintesis rantai  $\beta$ -globin. *Thalasemia* ditandai dengan anemia hemolitik dan gangguan eritropoiesis, dan komplikasi lain tergantung pada tingkat keparahannya. (Chaparro and Suchdev, 2019)

#### 2.1.4. Kadar Hemoglobin darah pada Gagal Ginjal Kronik

Anemia adalah penurunan kadar hemoglobin di bawah nilai normal. Gagal ginjal kronik progresif biasanya disertai dengan anemia normokromik normositik yang muncul setelah fungsi ginjal berkurang 50%. Derajat anemia berkorelasi secara garis besar dengan luasnya gangguan fungsional ginjal. Anemia pada gagal ginjal kronik bisa disebabkan oleh berbagai mekanisme seperti kekurangan zat besi, asam folat, atau vitamin B12, perdarahan gastrointestinal, hiperparatiroidisme berat, inflamasi sistemik dan pendeknya umur sel darah merah. (Shaikh and Aeddula R, 2022)

Penurunan sintesis erithropoietin (Epo) adalah salah satu etiologi penting dari penyebab anemia pada gagal ginjal kronik. Erithropoietin (Epo) adalah suatu hormon yang dihasilkan oleh sel fibroblas pada interstisial korteks ginjal. (Kaissling and Le Hir, 2008) Eritropoietin (Epo) merangsang proses eritropoiesis dengan memperbanyak sel progenitor yang berguna untuk pembentukan sel eritrosit. Penurunan sintesis erithropoietin disebabkan oleh kerusakan langsung pada sel-sel penghasil Epo di ginjal atau dari penekanan produksi Epo oleh sitokin inflamasi. (Bunn, 2013)

Anemia karena defisiensi zat besi juga merupakan komplikasi yang lumrah terjadi pada gagal ginjal kronik. Pasien dengan gagal ginjal kronik dapat menderita defisiensi zat besi absolut dan fungsional. Defisiensi zat besi absolut didefinisikan sebagai



kekurangan kadar cadangan zat besi yang parah atau tidak adanya cadangan zat besi di hati, lien, dan sumsum tulang, sedangkan defisiensi zat besi fungsional adalah cadangan zat besi mencukupi tetapi terjadi anemia karena adanya peningkatan hormon hepcidin yang menghambat transport fe sehingga zat besi tidak diserap atau di daur ulang dari sel retikuloendotelial dan kadar zat besi yang bersirkulasi berkurang. Karena hepcidin adalah hormon peptida kecil, ia disaring dan didegradasi oleh ginjal. Tingkat hepcidin meningkat pada gagal ginjal kronis dan berkorelasi negatif dengan laju filtrasi glomerulus (GFR). Mekanisme yang bertanggung jawab atas fenomena ini pada gagal ginjal kronis termasuk penurunan *renal clearance*, peningkatan sitokin inflamasi, dan penurunan kadar eritropoietin. (Garrido *et al.*, 2015; Perdana and Jacobus, 2015)

Selain itu, pasien gagal ginjal kronik memiliki kekurangan zat besi absolut. Hal ini dapat timbul dari kehilangan darah selama dialisis. Kehilangan zat besi dapat dikarenakan phlebotomi yang sering, dan darah yang tersisa di tabung dialisis. Kombinasi dari pengurangan penyerapan zat besi dan peningkatan kehilangan zat besi mengakibatkan defisiensi zat besi sering terjadi pada pasien gagal ginjal kronik baik yang bergantung pada dialisis dan yang tidak bergantung pada dialisis. (Gafer-Gvili, Schechter and Rozen-Zvi, 2019)

Anemia defisiensi besi juga menurunkan durasi hidup dari sel darah merah. Peningkatan kematian sel darah merah secara prematur dikarenakan peningkatan kekakuan membran dan penurunan deformabilitas dari sel darah merah. Sel darah merah merupakan target kerusakan akibat stres oksidatif yang berkelanjutan. Kerusakan oksidatif pada membran eritrosit dikaitkan dengan peningkatan proses peroksidasi lipid yang menyebabkan malfungsi membran dengan mengubah fungsi dari enzim yang terikat membran dan reseptornya, juga fluiditas dari membran sel itu sendiri yang berujung hemolisis. Kematian sel darah merah membebaskan zat besi yang kemudian meningkatkan resiko stress oksidatif. Stress oksidatif sendiri mengubah sifat membran sel dari sel darah merah. Telah dibuktikan bahwa paparan  $H_2O_2$  yang merupakan suatu *Reactive Oxygen Species* (ROS) meningkatkan peroksidasi lipid dan menurunkan deformabilitas sel dan kekakuan membran eritrosit, sehingga meningkatkan pembuangan sel darah merah di limpa. Hal ini meningkatkan kerentanan sel darah merah terhadap stres oksidatif dan peningkatan risiko produksi ROS pada anemia defisiensi besi pada kondisi gagal ginjal kronik, sehingga menciptakan suatu lingkaran setan yang berakibat pada kematian sel darah merah yang lebih besar, anemia, dan keparahan stres oksidatif. (Alvarez-suarez, Giampieri and Battino, 2013; Nuhu and Bhandari, 2018)

Umur sel darah merah sendiri mengacu pada durasi waktu sel darah merah bertahan dalam sirkulasi setelah dilepaskan dari sumsum tulang. Umur sel darah merah manusia dewasa normal yang biasanya dirujuk sekitar 120 hari berasal dari waktu kelangsungan hidup sel darah merah alogenetik yang ditransfusikan. Progresi dari gagal ginjal kronik dikaitkan dengan penurunan hemoglobin (Hb) dan umur sel darah merah atau eritrosit. Pada penelitiannya, Jiu-Hong Li et al. menemukan bahwa terjadi penurunan durasi umur eritrosit yang diasosiasikan dengan peningkatan derajat gagal ginjal kronik. Durasi umur eritrosit pada gagal ginjal kronik derajat 1-5 adalah sebagai berikut;

**Tabel 2.1. Hubungan Derajat Gagal Ginjal Kronik Dengan Masa Hidup Eritrosit**

Derajat Gagal Ginjal Kronik	Masa Hidup Eritrosit (hari)
1	122 ± 50
2	112 ± 26
3	90 ± 32
4	88 ± 28
5	60 ± 24

Dapat dilihat bahwa terjadi penurunan di setiap kenaikan derajat penyakit gagal ginjal kronik yang semakin buruk. Rata-rata umur sel darah merah untuk kelompok tahap 3, 4 dan 5, yang memiliki eGFR lebih buruk secara signifikan lebih pendek daripada

kelompok tahap 1 dan 2 yang memiliki eGFR lebih baik. (Li *et al.*, 2019)

## **2.2. Gagal ginjal kronik**

### **2.2.1. Pengertian**

Gagal ginjal kronik dapat disebabkan banyak penyakit yang mengubah kerja dan struktur ginjal secara permanen atau tidak dapat kembali seperti semula dalam proses yang berdurasi mulai dari berbulan-bulan hingga bertahun-tahun. Diagnosis gagal ginjal kronik dapat ditegakkan dengan mengetahui seberapa besar ginjal gagal untuk menjalankan fungsinya yaitu kemampuan ginjal untuk memfiltrasi darah dan kerusakan anatomi yang dialami ginjal. Untuk mengetahui penurunan fungsi ginjal, digunakan *glomerular filtration rate* atau GFR. (Webster *et al.*, 2016)

### **2.2.2. Etiologi**

Penyebab dari gagal ginjal kronik berbeda-beda secara global, hal ini disebabkan oleh kondisi geografis dan juga perekonomian dari negara. Secara umum diabetes mellitus tipe 1 dan hipertensi merupakan penyebab yang paling sering terjadi, baik di negara dengan pendapatan tinggi maupun menengah-rendah. Contoh penyebab lainnya adalah glomerulonefritis, penggunaan obat-obatan herbal dengan efek hepatotoksik, dan polusi lingkungan, terutama air

dan tanah oleh senyawa metal berat dan pestisida. (Webster *et al.*, 2016)

### 2.2.3. Patofisiologi

Gagal ginjal kronik dapat diakibatkan dari tiga kategori penyebab; prerenal, yang mana terjadi penurunan tekanan perfusi ginjal, intrinsic renal, yang mana terjadi suatu keadaan patologi dari pembuluh darah, glomerulus, atau tubulus interstitium, atau post renal, yang mana terjadi obstruksi yang mengakibatkan adanya aliran balik urin ke ginjal. Tidak seperti cedera ginjal akut yang mana proses penyembuhan berlangsung sempurna dan berakhir dengan ginjal yang dapat berfungsi dengan baik, kerusakan ginjal akibat nefropati kronik dan progresif akan berakibat fibrosis ginjal progresif dan kerusakan bangunan ginjal normal. Fibrosis ginjal diakibatkan oleh proses penyembuhan luka yang tidak sempurna dan dicirikan oleh adanya glomerulosklerosis, atrofi tubular dan fibrosis interstisial. (Webster *et al.*, 2016) Urutan kejadian yang menyebabkan terbentuknya jaringan parut dan fibrosis bersifat kompleks, bertumpang tindih, dan merupakan fenomena bertingkat; infiltrasi sel inflamasi ekstrinsik ke ginjal yang mengalami kerusakan, terjadinya aktivasi, proliferasi, dan kehilangan dari sel intrinsic ginjal karena apoptosis, nekrosis, mesangiolisis dan podositopenia, aktivasi dan proliferasi dari matriks ekstraseluler yang kemudian memproduksi sel myofibroblasts dan fibroblasts,

deposisi dari matriks ekstraseluler menggantikan sel normal. (Vaidya and Aeddula, 2022)

#### 2.2.4. Klasifikasi gagal ginjal kronik

Ada dua kelompok dari gagal ginjal kronik, dilihat dari dasar penyakit dan diagnosis etiologi. Klasifikasi berdasarkan derajat penyakit ditentukan oleh perhitungan rumus *Kockcroft-Gault* (Madjid, 2009).

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

\*)pada perempuan dikalikan 0,85

Klasifikasi gagal ginjal kronik berdasarkan derajat penyakit, antara lain (Madjid, 2009):

**Tabel 2.2. Klasifikasi gagal ginjal kronik berdasarkan derajat penyakitnya (Madjid, 2009)**

Derajat	Keterangan	LFG (ml/menit/1,73m <sup>2</sup> )
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 gagal ginjal kronik berdasarkan diagnosis etiologi (Madjid, 2009)**

Penyakit		Tipa Mayor (contoh)
Penyakit diabetes	ginjal	Diabetes tipe 1 dan 2
Penyakit diabetes	ginjal non	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 transplantasi	pada	1. Rejeksi kronik
		2. Keracunan obat (siklosporin/tacrolimus)
		3. Penyakit recurrent (glomerular)
		4. Transplant glomerulopathy

### 2.3. *Unilateral Uretral Obstruction (UUO)*

*Unilateral Uretral Obstruction (UUO)* atau Obstruksi ureter unilateral merupakan suatu model eksperimental untuk menstimulasi kerusakan ginjal. UUO menstimulasi keadaan ginjal dengan masalah *post-renal* yang mana terjadi obstruksi yang mengakibatkan adanya aliran balik urin ke ginjal. UUO mengakibatkan suatu kerusakan ginjal subakut yang ditandai dengan cedera sel tubulus, inflamasi interstisial, dan fibrosis (Ucero *et al.*, 2014). UUO memberikan hasil ginjal dengan *progressive parenchymal injury*, yang mana lebih dari 80% glomeruli mengalami transformasi setelah 14 hari dilakukan. Prosedur UUO juga memiliki kelebihan yaitu mampu melokalisasi lesi di satu ginjal saja tanpa memerlukan tindakan pengangkatan ginjal dan tidak adanya efek sistemik dikarenakan toksin yang

digunakan untuk menstimulasi gagal ginjal. (Chevalier, Forbes and Thornhill, 2009; Forbes, Thornhill and Chevalier, 2011)

Pada model UUO, tersumbatnya ureter menyebabkan aliran urin menjadi statis, hal ini mengakibatkan kenaikan dari tekanan hidrostatik yang awalnya mendilatasi tubulus kolektif, tekanan ini kemudian ditransmisikan kembali ke tubulus proksimal dan tubulus distal. Peningkatan tekanan di tubulus proksimal memiliki dua efek yaitu; penurunan dari *Glomerular Filtration Rate* (GFR) dan adanya kerusakan mekanik akibat peregangan di sel epitel tubulus. Obstruksi dalam waktu yang lama dari tubulus pada tindakan UUO mengakibatkan penurunan dari *Renal Blood Flow* dan peningkatan dari vasokonstriksi pembuluh darah ginjal sehingga terjadi kekurangan dari suplai darah ke ginjal. Aktivasi dari RAS dan ET-1 juga berkontribusi terhadap vasokonstriksi pembuluh darah ginjal, proses apoptosis dari sel epitel tubular, respons inflamasi stress oksidatif dan juga fibrosis. Kerusakan mekanik dari peregangan di sel epitel tubulus mengakibatkan sel tubulus rusak dan berapoptosis. Apoptosis dari sel tubular ginjal diaktivasi dengan transformasi dari TGF-  $\beta$ 1, TNF- $\alpha$ , Fas, p53, dan ceramide. Apoptosis sel tubular ginjal sudah terlihat sejak hari ke 3 dari tindakan UUO. (Chevalier, Forbes and Thornhill, 2009; Martínez-Klimova *et al.*, 2019)

Pelebaran pada tubulus mengakibatkan inflamasi serta pelepasan banyak sitokin dan mediator yang memicu fibroblast berubah menjadi myofibroblast yang kehilangan kemampuan memproduksi Erythropoietin

(Epo). Pada hewan model UUO pemberian terapi Epo meningkatkan level Hb secara bermakna (Kitamura *et al.*, 2008; Asada *et al.*, 2011) Hal lain yang mempengaruhi level Hb adalah kadar zat besi dalam darah. Garrido *et al.* (2014) meneliti tentang dismetabolisme hepcidin-besi, anemia dan hipoksia ginjal, inflamasi dan fibrosis pada tikus model *remnant kidney* dengan hasil ginjal yang tersisa masih mampu untuk memproduksi Epo, tetapi hewan coba tetap mengalami anemia. Kejadian ini dikaitkan dengan rendahnya serum besi dan kadar transferin, anemia diduga sebagai hasil dari gangguan metabolisme besi dan perubahan fungsi Epo akibat kerusakan sel ginjal dan keadaan inflamasi. Pada tikus yang mengalami gagal ginjal kronik terjadi penurunan yang signifikan dalam serum besi dan tingkat transferin serta nilai yang sama untuk ferritin dibandingkan dengan tikus yang tidak mengalami gagal ginjal kronik. (Garrido *et al.*, 2015) Pada tikus yang diinduksi UUO, terjadi kenaikan tingkat hepcidin bahkan sejak hari pertama. Hepcidin pada model UUO diatur oleh tingkat zat besi, rangsangan inflamasi dan keadaan hipoksia. (Pan *et al.*, 2020)

Kerusakan ginjal juga dipengaruhi oleh stress oksidatif. Pada hari ke 14 dari tindakan UUO terjadi penurunan dari sistem antioksidan enzimatik, juga kadar *superoxide dismutase* dan kadar katalase pada mencit. *Nuclear Factor (Erythroid-derived 2)-Like 2* (Nrf2), sebuah faktor transkripsi yang menginisiasi transkripsi dari elemen response antioksidan, termasuk enzim antioksidan seperti glutathion peroksidase, NAD(P)H:quinone oksireduktase 1 (NQO1), katalase, heme oksigenase 1 (HO-1), dan thioreduktase

pada keadaan stress oksidatif. Pada model UUO terjadi penurunan kadar Nrf2, hal ini dikarenakan oleh adanya aktivasi RAS dan peningkatan dari Nuclear Factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). Aktivasi RAS menstimulasi produksi dari faktor-faktor yang memicu proses inflamasi diantaranya; *Transforming Growth Factor  $\beta$ 1* (TGF- $\beta$ <sub>1</sub>), *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *Monocyte Chemoattractant Protein 1* (MCP-1), *Vascular Cell Adhesion Molecule 1* (VCAM-1) dan termasuk NF- $\kappa$ B. Sehingga terbentuk suatu lingkaran siklus dari RAS dan NF- $\kappa$ B, dan antara NF- $\kappa$ B dan TNF- $\alpha$ . Gen RAS meregulasi Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. RAS memprovokasi terjadinya fibrosis dengan memicu TGF- $\beta$ /Smad and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. Fibrosis, pada gilirannya akan mengaktivasi lagi RAS dan siklusnya akan terulang.(Martinez-Klimova *et al.*, 2019) Proses yang saling bertumpuk dan berkesinambungan tersebut mengakibatkan penurunan dari kadar hemoglobin dalam darah tikus, sedangkan kadar hemoglobin dalam darah normal bagi tikus usia 8-16 minggu (2-4 bulan) adalah 13,7-17,6 g/dL. (Giknis and Clifford, 2008)

#### 2.4. Irbesartan

Irbesartan adalah suatu obat antagonis reseptor angiotensin II tipe 1 yang disetujui di banyak negara di seluruh dunia untuk pengobatan hipertensi dan nefropati pada pasien dengan hipertensi dan diabetes mellitus tipe 2. Pada orang dewasa dengan hipertensi esensial, irbesartan efektif dalam menurunkan tekanan darah selama periode 24 jam dengan pemberian dosis sekali sehari. 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 (Harmely *et al.*, 2018). Irbesartan juga memperlambat perkembangan penyakit ginjal pada pasien yang mengalami hipertensi dan diabetes tipe 2. (Croom and Plosker, 2008)

Irbesartan bekerja untuk menurunkan tekanan darah dengan menyekat dari reseptor Angiotensin II sehingga akan terjadi penurunan tekanan darah karena vasodilatasi yang menurunkan tahanan vaskuler perifer dan retensi garam dan air. (Harmely *et al.*, 2018) Pada penelitiannya Kusunoki *et al.* (2013) menyatakan bahwa Irbesartan memiliki efek renoprotektif yang kuat. Pada perlakuan infus aldosteron dan NaCl 1% selama satu bulan yang secara signifikan meningkatkan presentase luas fibrosis ginjal, terapi irbesartan secara signifikan akan mengurangi fibrosis melalui antifibrotik yang ada dalam irbesartan melalui jalur PPAR  $\gamma$ —HGF dan blokade AT1R bebas. Aldosteron tidak hanya menyebabkan fibrosis interstitial, tetapi juga perluasan mesangial di glomerulus dan fibrosis di sekitar glomerulus, sehingga terapi irbesartan dapat mengurangi ekspresi TGF- $\beta$ 1 di area tubulointerstitial ginjal. Adanya infiltrasi makrofag dan EMT di jaringan intersisial ginjal oleh aldosteron kemudian merangsang sel inflamasi seperti makrofag yang memiliki peran dalam fibrosis ginjal dan stress oksidatif melalui aktivasi dari reseptor mineralokortikoid. Pemberian irbesartan dapat mengurangi infiltrasi makrofag dan mengurangi area myofibroblas. Irbesartan menekan persinyalan redoks sehingga

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 $\gamma$ . (Kusunoki *et al.*, 2013)

## 2.2 Madu

Madu adalah cairan kental, manis dan lengket yang dihasilkan oleh lebah. Madu telah dimanfaatkan sejak lama sebagai obat terutama karena madu bersifat anti-mikroba, antioksidan, berguna bagi system imun dan bernutrisi. Madu memiliki sifat antioksidan karena madu mengandung flavonoid, asam amino, asam organik, enzim-enzim seperti katalase, glukosa oksidase, peroksidase, asam askorbat, protein, mineral seperti tembaga dan besi, dan lebih dari 150 konstituen polifenol seperti katekin, asam ellagik, asam galat, asam syringic, asam benzoat, asam ferulic, myricetin, asam klorogenat, asam caffeic, hesperetin, asam kumarat, isoramnetin, chrysin, quercetin, galangin, luteolin, kaempferol dan turunan asam sinamat (Rana *et al.*, 2018). Vitamin yang dikandung dalam madu termasuk asam askorbat (C), riboflavin (B2), asam nikotinik (B3), asam panthothenic (B5), Phyradoxine (B6), biotin (B8 atau H), dan asam folat (B9). Komposisi mineral dalam madu ialah 0.04% hingga 0.2% tergantung dari jenis madu itu sendiri. Beberapa mineral yang dikandung dalam madu adalah potassium, magnesium, kalsium, zat besi, fosfor, sodium, mangan,



yodium, zink, lithium, cobalt, nikel, cadmium, kuprum, dan lain lain (Miguel and Faleiro, 2017).

Madu telah dilaporkan efektif dalam beberapa keadaan patologis yang dialami manusia. Studi klinis *in vitro* membuktikan bahwa madu memiliki sifat antimikroba spektrum luas (antibakteri, antijamur, antivirus, dan antimikobakteri). Hal tersebut dikaitkan dengan keasaman madu (pH mulai dari 3,4 - 6,1), konsentrasi gula tinggi (80% dari total berat keseluruhan madu), adanya faktor bakteriostatik dan faktor bakterisida di dalam madu (hidrogen peroksida, antioksidan, lisozim, polifenol, asam fenolat, flavonoid, methylglyoxal, dan peptida lebah *defesin-1*). Madu dari sumber botani yang berbeda menghasilkan produk dengan manfaat yang berbeda pula. Madu yang dihasilkan oleh *Brassica napus* L. dan *Fagopyrum esculentum* Moench direkomendasikan untuk terapi penyakit ginjal. (Israili, 2014; Szweda, 2017)

Flavonoid dalam madu memiliki sifat anti hemolitik dan antioksidan yang sudah terbukti secara *in vitro* untuk meningkatkan integritas dari membrane sel darah merah yang menjelaskan kenapa madu dapat menghambat hemolisis oksidatif sel darah merah. Penelitian terkini menunjukkan bahwa madu mampu menurunkan resiko stress oksidatif pada tikus dengan gagal ginjal kronik atau hipertensi melalui peningkatan dari aktifitas atau ekspresi dari Nrf2. (Alvarez-suarez, Giampieri and Battino, 2013) Anemia pada gagal ginjal juga kronik bisa disebabkan oleh berbagai mekanisme seperti kekurangan zat besi, asam folat, atau vitamin B



kompleks, madu mengandung banyak dari nutrisi-nutrisi tersebut yang dapat membantu produksi sel darah merah sehingga kadar hemoglobin akan meningkat dan anemia teratasi (Maulina and Amalasari, 2018). G. Bhuvaneswari mengatakan bahwa kandungan zat besi dalam madu cukup untuk dapat meningkatkan kadar zat besi dalam darah. Pada penelitiannya, Al-waili et al mengatakan bahwa madu dapat meningkatkan avaibilitas dari zat besi dan menginhibisi sintesis prostaglandin sehingga terjadi peningkatan kadar hemoglobin dalam darah. (Al-waili, 2003).

## 2.5. Habbatussauda

Berdasarkan ilmu taksonomi tumbuhan, Habbatussauda diklasifikasikan dalam kingdom Plantae, subkingdom Traceabionta (Junaedi, 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

Jinten hitam atau Habbatussauda (*Nigella sativa L.*), merupakan tumbuhan berbunga semusim yang tingginya mencapai 20-90 cm, dengan daun yang terbelah halus, ruas-ruas daun bergaris lurus hingga seperti benang. Habbatussauda memiliki bunga yang halus, dan biasanya berwarna putih, kuning, merah muda, biru pucat atau ungu pucat, dengan 5 sampai 10 kelopak. Buahnya berbentuk kapsul besar dan menggembung, terdiri dari 3-7 folikel yang bersatu, yang mana masing-masing berisi banyak biji. (Ahmad *et al.*, 2013)

Habbatussauda memiliki signifikansi dalam konteks religius maupun tradisional sebagai obat. Tanaman ini memiliki latar belakang agama dan sejarah yang panjang dan disebutkan dalam berbagai literatur keagamaan. Habbatussauda disebutkan dalam Perjanjian Lama Alkitab dan ditemukan dalam kitab Yesaya yang mana Habbatussauda diacu sebagai "ketzah" yaitu bumbu untuk roti dan kue yang dapat digunakan dalam banyak cara. Disebutkan sebagai Melanthoin dan Gith dalam literatur lama. Habbatussauda juga disebutkan dalam pengobatan Tradisional Cina dan India. Telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit sejak ribuan tahun yang lalu dan dikenal sebagai obat vital dalam pengobatan India. Habbatussauda juga dibahas dalam Pengobatan Tradisional Arab dan Islam (TAIM) dengan nama "Habb-e-Sauda". Dikenal sebagai obat kenabian karena penggunaan biji ini telah disebutkan oleh nabi (SAW). Telah disebutkan dalam kitab Bukhari bahwa "N. sativa adalah penyembuh segala penyakit (Bukhari 5687)" (Ahmad *et al.*, 2021).

Habbatussauda merupakan salah satu tanaman yang sangat populer digunakan untuk obat asma, bronkitis, rematik, dan berbagai penyakit *inflammatory disease*. (Ahmad *et al.*, 2013) Banyak senyawa aktif telah diisolasi, diidentifikasi dan dilaporkan sejauh ini dalam berbagai varietas Habbatussauda. Senyawa aktif yang paling penting adalah thymoquinone (30%-48%), thymohydroquinone, dithymoquinone, p-cymene (7%-15%), carvacrol (6%-12%), 4-terpineol (2%-7%), t-anethol (1%-4%), sesquiterpene longifolene (1%-8%)  $\alpha$ -pinene, thymol dan lain lain. Habbatussauda juga mengandung beberapa senyawa lain dalam jumlah sedikit. Biji dari Habbatussauda mengandung dua jenis alkaloid; yaitu alkaloid isoquinoline seperti nigellicimine dan nigellicimine-N-oxide, dan alkaloid pirazol atau alkaloid bantalan cincin indazole yang meliputi nigellidine dan nigellicine. Selain itu, biji dari Habbatussauda juga mengandung alfa-hederin, triterpen pentasiklik yang larut dalam air dan saponin, yang berpotensi sebagai agen antikanker. (Ahmad *et al.*, 2013). Thymoquinone (2-Isopropyl-5-methylbenzo-1, 4-quinone) adalah komponen aktif utama dari minyak atsiri habbatussauda. Thymoquinone pertama kali diekstraksi oleh El-Dakhakhny, dan di antara berbagai komponen aktif berbeda dalam kandungan habbatussauda yang dilaporkan sejauh ini, Thymoquinone (TQ) tetap menjadi komponen utama yang digunakan karena berbagai manfaat terapeutiknya termasuk antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antibakteri, aktivitas antifungal, dan aktivitas antikonvulsan. (Badary, Hamza and Tikamdas, 2021)

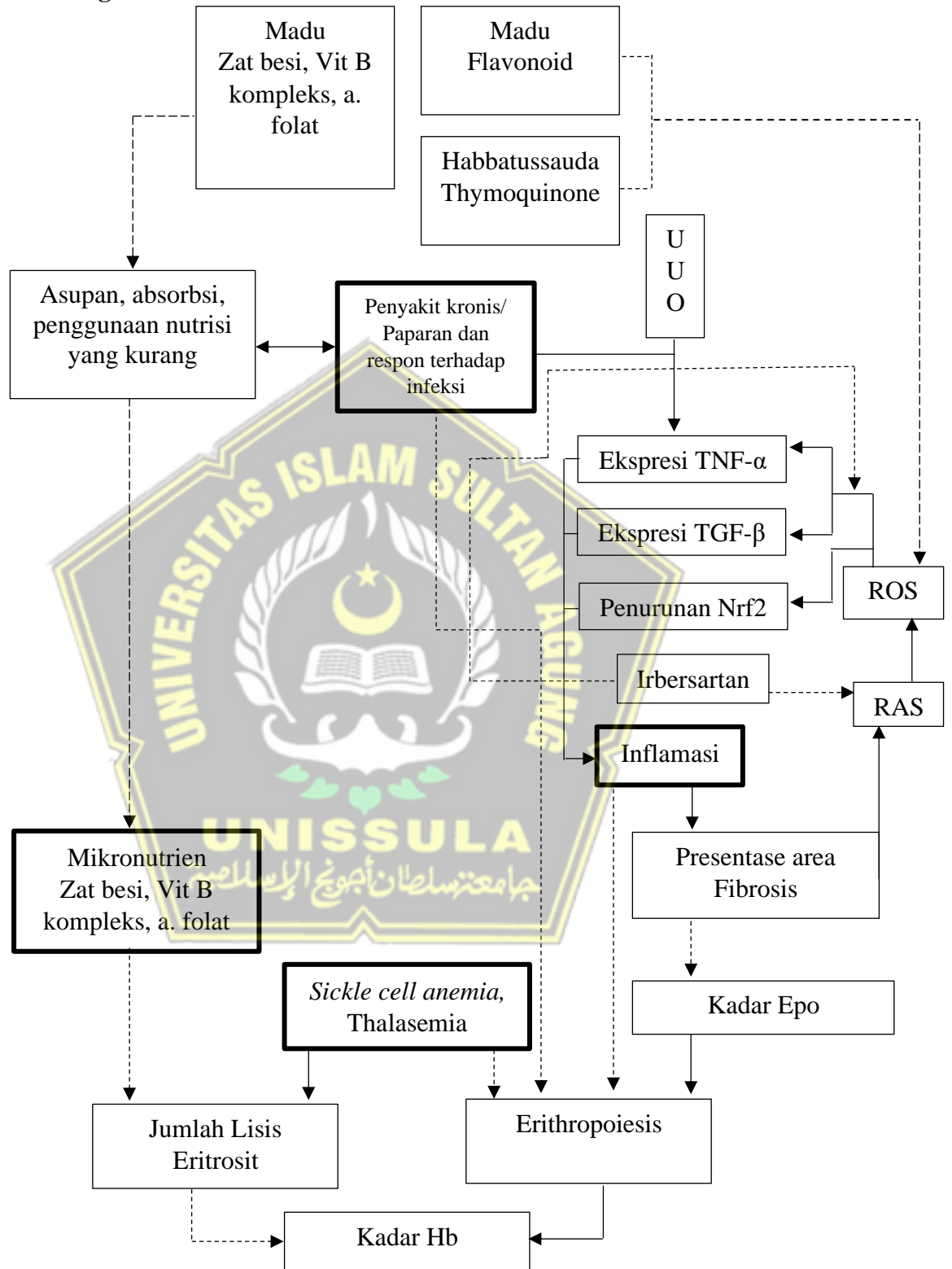
Habbatussauda memiliki efek anti-anemik, hal ini dibuktikan pada Pada penelitian Tariq Helal Ashour yang menyebutkan bahwa tikus yang mengalami penurunan produksi eritropoetin sehingga terjadi anemia diberikan terapi thymoquinone (TQ) mengalami peningkatan kadar Epo secara signifikan hingga hampir kembali ke kadar normal, selain itu diamati juga bahwa fungsi ginjal juga lebih baik pada tikus yang diberikan terapi thymoquinone dibandingkan dengan tikus kontrol negatif. Dengan kata lain efek anti-anemik yang dimiliki oleh habbatussauda sebagian dapat dikarenakan oleh sifat *renoprotective* yang dimiliki oleh habbatussauda terhadap *renal injury* yang diinduksikan yang kemudian meningkatkan produksi Epo dan sintesis sel darah merah. (Ashour, 2015) Pada penelitian lainnya mengenai *ischemia reperfusion renal injury* didapatkan bahwa pemberian thymoquinone (TQ) dapat menghasilkan perbaikan yang signifikan dalam sel ginjal tubular dan parameter fungsional hemodinamik dan melemahkan ekspresi gen dari beberapa sitokin pro-fibrotik dan pro-inflamasi, yaitu tumor transforming growth factor beta 1 (TGF- $\beta$ 1), inhibitor tipe-1 dari aktivator plasminogen (PAI) dan faktor nekrosis alfa (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  merupakan sitokin pro-inflamasi yang diproduksi oleh beberapa sel termasuk sel ginjal. TGF- $\beta$  adalah sitokin pro-fibrotik yang merangsang sel-sel ginjal untuk menghasilkan protein matriks ekstraseluler yang mengarah ke glomerulosklerosis dan fibrosis tubulointerstitial. PAI-1 juga merupakan sitokin pro-fibrotik karena dianggap sebagai penghambat utama fibrinolisis. Semua sitokin ini meningkat pada pasien dengan penyakit ginjal. (Hammad

and Lubbad, 2016). Karena di penyakit gagal ginjal kronik atrofi tubular menyebabkan fibrosis tubulointerstitial, yang mempengaruhi kemampuan ginjal untuk memproduksi erithropoietin dan mengakibatkan terjadinya anemia, Thymoquinone (TQ) dapat mengatasi penurunan Epo yang menjadi faktor utama terjadinya anemia pada gagal ginjal kronik. Habbatussauda juga memiliki efek lain yang mempengaruhi terhadap peningkatan kadar Hemoglobin dalam darah, yaitu kemampuannya untuk menurunkan hemolisis yang diinduksi oleh stress oksidatif. (El-Shanshory *et al.*, 2019)

## **2.6. Kombinasi Madu dan Habbatussauda terhadap Gagal Ginjal Kronik**

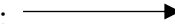


Pada penelitiannya, Nora Maulina *et al.* menemukan pemberian madu dengan dosis 1,56 micro/gram berat badan tikus memberikan hasil peningkatan kadar hemoglobin yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol (Maulina and Amalasari, 2018). Penelitian Asfur dan sadewo menunjukkan bahwa pemberian madu dengan dosis 1,35 mL/tikus/hari akan meningkatkan fungsi ginjal secara signifikan (Asfur and Sadewo, 2019). Pemberian habbatussauda (*nigella sativa*) dengan dosis 2ml/Kg berat badan tikus selama 30 hari juga memberikan kenaikan signifikan terhadap jumlah sel darah merah dan hemoglobin (Demir, 2006). Peningkatan kadar hemoglobin yang signifikan juga ditunjukkan dengan tikus yang diberikan perlakuan pemberian ekstrak Habbatussauda (*nigella sativa*) dengan dosis 2ml/Kg berat badan tikus selama 12 minggu (Zaoui *et al.*, 2002)

## 2.7. Kerangka Teori



Gambar 2.1. Kerangka Teori



Keterangan	
Meningkatkan	: 
Menghambat	: 
Etiologi anemia dunia :	

## 2.8. Kerangka Konsep



**Gambar 2.2.** Kerangka konsep

## 2.9. Hipotesis

Pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dapat meningkatkan kadar hemoglobin darah pada tikus yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction*.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan “*pre-post test control group design*”.

#### **3.2. Variabel dan Definisi Operasional**

##### **3.2.1. Varibel Penelitian**

###### **3.2.1.1. Variabel Bebas**

Dosis dari madu dan dosis dari habbatussauda yang dikombinasikan.

###### **3.2.1.2. Variabel Terikat**

Kadar Hemoglobin dalam darah tikus dengan gagal ginjal kronik yang diinduksi dengan UUO.

##### **3.2.2. Definisi Operasional**

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

Penelitian ini menggunakan kombinasi bahan alami berupa madu multiflora dan ekstrak habbatussauda yang diberikan secara peroral pada satu waktu tanpa mencampurkan ekstrak habbatussauda dengan larutan madu. Kombinasi tersebut diberikan setiap hari satu kali

sehari dalam durasi waktu 21 hari secara peroral dengan sonde lambung khusus. Pada penelitian ini digunakan 3 kelompok uji dengan kombinasi dosis yang berbeda, yang mana kelompok pertama mendapatkan madu 0,675 mL/200 g/hari dengan pengenceran air 2,025 ml dan habbatussauda 0,3 mL/200 g/hari, kelompok kedua mendapatkan dosis madu 1,35 mL/200 g/hari dengan pengenceran air 1,45 ml dan habbatussauda 0,2 mL/200 g/hari, dan kelompok terakhir mendapatkan dosis kombinasi madu 2,025 mL/200 g/hari dengan pengenceran air 0,875 ml dan habbatussauda 0,1 mL/200 g/hari.

Skala data : Ordinal.

#### 3.2.2.2. Kadar Hemoglobin

Hasil pengukuran kadar hemoglobin diambil dari tikus putih jantan galur wistar diambil pada hari ke 22 setelah perlakuan. Dilakukan phlebotomy pada tikus untuk mengambil darah sebanyak yang diperlukan, kemudian dilakukan pemeriksaan hemoglobin dengan haemometer sahli.

Skala data : Rasio

### 3.3. Subjek Uji

Subjek uji penelitian ini adalah tikus putih jenis Galur Wistar berjenis kelamin jantan, dipelihara di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Penentuan jumlah subjek uji pada penelitian ini menggunakan rumus Frederer dengan 5 kelompok uji, dengan perhitungan sebagai berikut :

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

Keterangan : n = Banyak sampel di setiap kelompok

: t = Banyak kelompok

Jumlah Kelompok : 6 kelompok

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

$$: (n-1) \times (6-1) \geq 15$$

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

$$: 5n - 5 \geq 15$$

$$: n \geq (15 + 5) / 5$$

$$: n \geq 4$$

$$: n > 4$$

Sampel per kelompok

Dari perhitungan didapatkan untuk jumlah sampel di setiap kelompok adalah 4 individu perkelompok. Dalam enam kelompok, masing masing ada 5 Individu tikus putih jantan galur Wistar, satu individu ditambahkan untuk menjadi *safety net* jika salah satu diantara individu kelompok tidak bisa dilanjutkan penelitian hingga akhir. Sehingga secara keseluruhan terdapat 30 tikus putih jantan galur Wistar.

Kriteria inklusi :

1. Tikus adalah tikus putih berjenis *Rattus norvegicus L.* galur wistar jantan.
2. Tikus berusia 2 hingga 3 bulan.
3. Tikus memiliki berat badan 180 hingga 220 gram.
4. Tikus tampak luar sehat termasuk; bergerak secara aktif, makan dan minum dengan normal, tidak memiliki luka maupun cacat, baik bawaan atau didapat.

### **3.4. Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1. Alat Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan alat sebagai berikut: kandang tikus, tempat makan dan minum untuk tikus, timbangan, *handscoen*, spuit 5 ml, sonde lambung tikus, gunting jaringan, gunting bengkok, *needle holder*, jarum *cutting*, *micro cauter*, benang *silk 3/0*, gunting lurus, pinset bengkok, pinset surgis, dan spektrofotometer.

#### **3.4.2. Bahan Penelitian**

Pada penelitian ini digunakan bahan-bahan sebagai berikut; ekstrak habbatussada (*Nigella sativa L.*), madu multiflora, aquabides, dan Somnopentyl<sup>®</sup>, serta povidone iodine.

### 3.5. Cara Penelitian

#### 3.5.1. Pembuatan Ekstrak

##### 3.5.1.1. Ekstrak Habbatussauda (*Nigella sativa L.*)

Ekstrak didapatkan dengan metode maserasi yaitu dengan menggunakan etanol sebagai pelarut, biji habbatussauda yang telah dihaluskan akan direndam selama kurang lebih 24 jam. Setelah itu ekstrak biji akan ditingkatkan kekentalannya dengan menggunakan mesin *rotary evaporator* pada suhu didih dari pelarut sampai diperoleh ekstrak yang pekat.

#### 3.5.2. Penentuan Dosis

##### 3.5.2.1. Madu

Asfur & Sadewo pada tahun 2019 dalam penelitiannya menggunakan dosis madu 1,35 mL/tikus/hari (Asfur and Sadewo, 2019) Mengacu pada dosis penelitian sebelumnya, dapat ditentukan dosis rendah, dosis menengah dan dosis tinggi, sehingga penelitian ini menggunakan dosis madu sebanyak 0,675 mL/200 g/hari, 1,35 mL/200 g/hari, dan 2,70 mL/200 g/hari.

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

Alkadri et al pada penelitian sebelumnya di tahun 2019 menggunakan dosis habbatussauda 1 ml/KgBB

(Alkadri, Ilmiawan and Handini, 2019) mL/200 g/hari. Mengacu pada dosis penelitian sebelumnya, dapat ditentukan dosis rendah, dosis menengah dan dosis tinggi, sehingga penelitian ini menggunakan dosis habbatussauda sebanyak 0,5 mL/200 g/hari, 1 mL/200 g/hari, 2 mL/200 g/hari.

#### 3.5.2.3. Dosis Ibersartan

Pada penelitiannya Harmely et al, menggunakan dosis ibersartan 2,7 mg atau sama dengan 13,5 mg/KgBB yang kemudian diberikan pada tikus putih jantan dengan berat 200 gram (Harmely *et al.*, 2018). Sehingga penelitian ini menggunakan dosis ibersartan 2,7 mL/200 gr/hari.

#### 3.5.3. Pemberian Perlakuan

Penelitian dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Tikus diadaptasikan selama 7 hari kemudian tikus dibagi secara acak ke dalam 5 kelompok dengan setiap kelompok berisi 6 ekor tikus.

Model gagal ginjal kronik tikus dibuat dengan menggunakan metode *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO), yaitu metode dengan cara ligasi ureter dengan jumlah dua ikatan. Tindakan untuk membuat tikus model gagal ginjal metode ini adalah :

- a. Anestesi tikus dengan menggunakan Somnopentyl® (Natrium Pentobarbital) yang sudah diencerkan 10 kali (0,1 ml / 10 gBB).
- b. Bersihkan rambut tikus pada regio lumbalis (*flank*) sisi kanan atau kiri dengan cara dicukur.
- c. Perikan povidone iodine pada daerah yang akan dilakukan insisi sebagai tindakan antiseptik.
- d. Insisi di regio lumbalis (*flank*) sepanjang  $\pm 1,5$  cm, insisi mengenai kulit dan fascia renalis.
- e. Identifikasi ginjal lalu telusuri bagian polus posteroinferior hingga mencapai ureter.
- f. Ungkit ureter keluar.
- g. Ligasi atau ikat ureter di daerah proksimal dan distal menggunakan benang jahit silk 3/0, setelah itu ureter antara kedua ligasi dipotong 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 prosedur *Ureteral Obstruction* (UUO) dilakukan, mencit kemudian akan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan



dengan UUO, dan 1 kelompok tidak dilakukan UUO, sehingga pembagian kelompok tersebut adalah sebagai berikut :

#### 3.5.3.1. Kelompok I

Kelompok I merupakan kelompok yang berisi sebanyak 5 ekor tikus normal, dilakukan metode *Sham Operation*, yaitu prosedur surgikal tanpa tindakan yang mempengaruhi keadaan tikus, prosedur ini berfungsi sebagai plasebo. Tikus tidak diberi kombinasi madu dan habbatussauda, tetapi hanya diberikan pakan standar dan aquadest.

#### 3.5.3.2. Kelompok II

Kelompok II merupakan kelompok yang berisi sebanyak 5 ekor tikus normal, dilakukan tindakan *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO) pada tikus selama 14 hari. Tikus tidak diberi kombinasi madu dan habbatussauda, tetapi hanya diberikan pakan standar dan aquadest.

#### 3.5.3.3. Kelompok III

Kelompok III merupakan kelompok kontrol positif yaitu diberikan obat yang sudah diketahui efeknya atau obat *gold standart*, yang berisi sebanyak 5 ekor tikus yang telah diberi perlakuan metode UUO selama 14 hari, serta diberikan ibersartan 2,7 mL/200 g/hari selama 21 hari.

#### 3.5.3.4. Kelompok IV

Kelompok IV, merupakan kelompok uji I berisi sebanyak 5 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquades, dan diberi perlakuan metode UUO selama 14 hari, tikus juga diberikan kombinasi madu 0,675 mL/200 g/hari dengan pengenceran air 2,025 ml dan habbatussauda 0,5 mL/200 g/hari selama 21 hari.

#### 3.5.3.5. Kelompok V

Kelompok V merupakan kelompok uji II yang berisi sebanyak 5 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquades, metode UUO selama 14 hari, tikus juga diberikan kombinasi madu 1,35 mL/200 g/hari dengan pengenceran air 1,45 ml dan habbatussauda 1 mL/200 g/hari selama 21 hari.

#### 3.5.3.6. Kelompok VI

Kelompok VI merupakan kelompok uji III yang berisi sebanyak 5 ekor tikus. Tikus diberikan pakan standar, aquades, dan diberi perlakuan metode UUO selama 14 hari, serta kombinasi madu 2,70 mL/200 g/hari dengan pengenceran air 0,875 ml dan habbatussauda 2 mL/200 g/hari selama 21 hari.

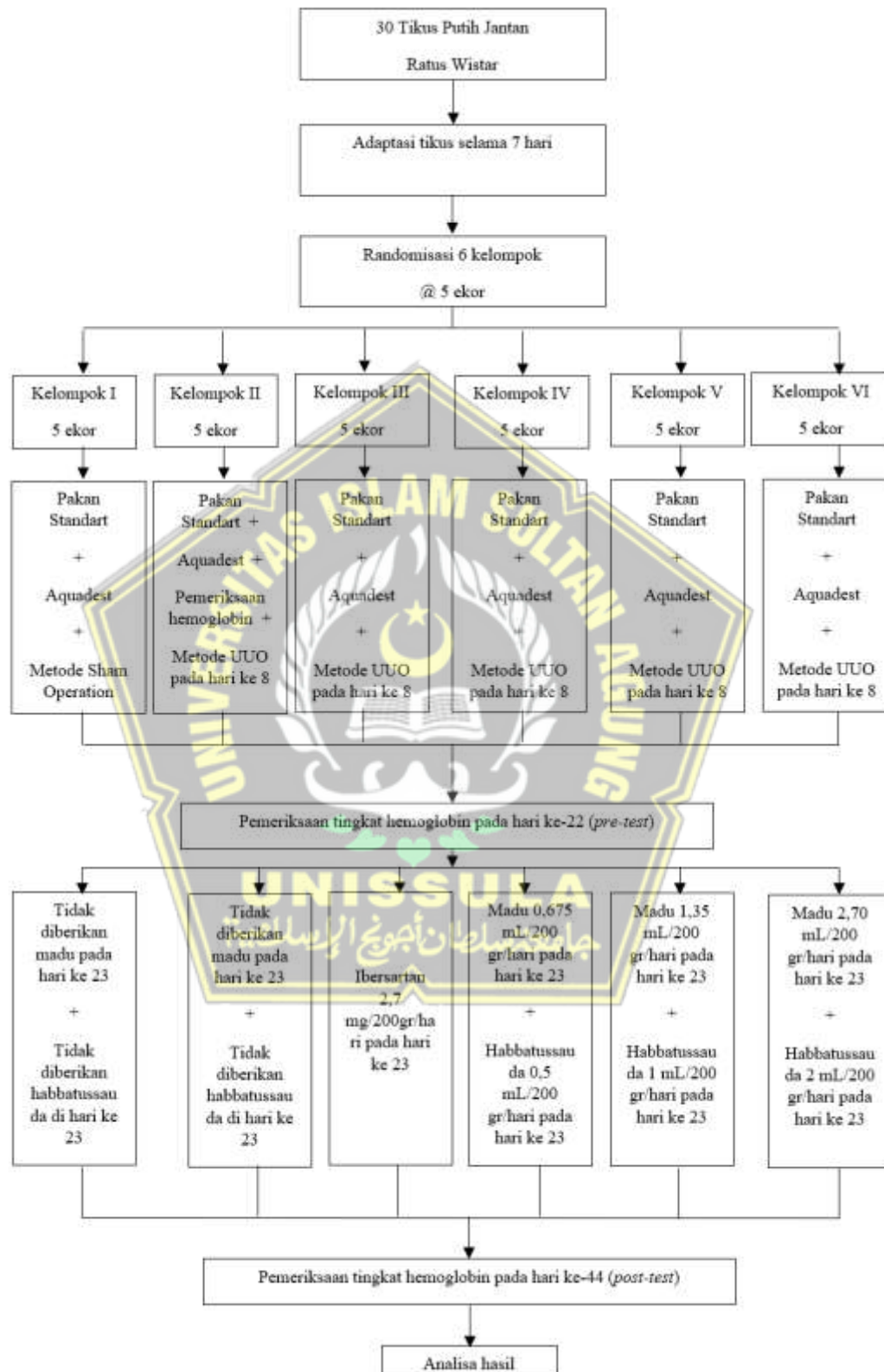
#### 3.5.4. Cara Pengambilan Serum

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 mendapatkan serum. Pengambilan serum menggunakan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang sudah diberi label.

#### 3.5.5. Cara Pemeriksaan Kadar Hemoglobin

Pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan alat *hematology analyzer sysmex*. Alat *hematology analyzer sysmex* dapat digunakan untuk analisis komponen darah baik manusia maupun hewan coba. Sampel yang digunakan bisa merupakan darah utuh atau whole blood, maupun darah yang telah diencerkan. alat ini di operasikan secara otomatis sepenuhnya sehingga tingkat kekeliruan rendah.

### 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 Gajah Mada Yogyakarta.

#### 3.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2021 hingga bulan Oktober 2021.

### 3.8. Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian diolah dengan menggunakan program SPSS. Hasil uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's test* ke data *pre test* dan *post test* masing-masing bernilai  $p > 0.05$  dan  $p = 0,000$ . Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc Equal Variances Not Assumed* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Juga dilakukan T test untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara hasil *pretest* dan *posttest*.

## BAB IV

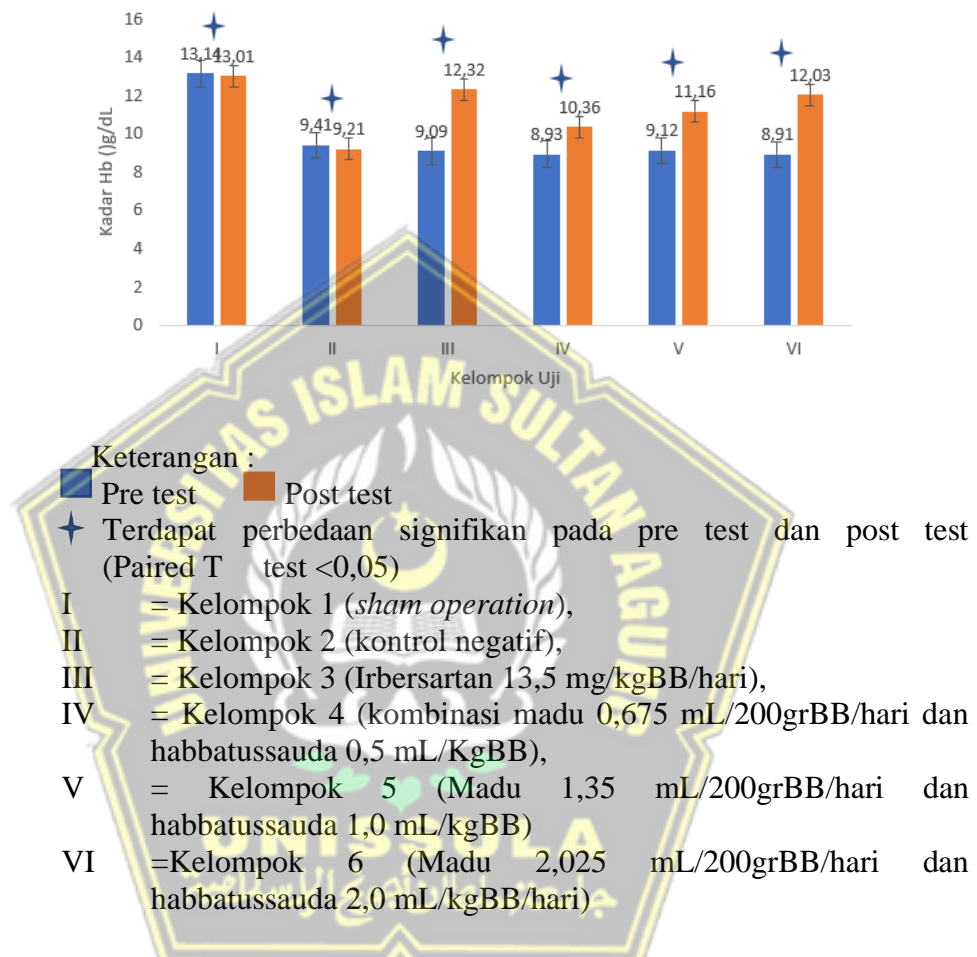
### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Penelitian tentang pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap tingkat hemoglobin tikus yang diinduksi dengan *Unilateral Urethral Obstruction* (UUO) telah dilaksanakan dari tanggal 14 Juni 2021 sampai dengan 26 Juli 2021. Sebanyak 30 sampel darah tikus didapatkan dari 6 kelompok tikus yang telah dirandomisasi dengan 5 tikus di setiap kelompok. Selama penelitian dilaksanakan tidak ada tikus yang mati maupun sakit sehingga sampel yang didapatkan adalah 5 dari setiap kelompok. Kelompok I merupakan kelompok *sham operation* atau kelompok yang tanpa perlakuan, kelompok II merupakan kelompok tikus model UUO, kelompok III merupakan kelompok tikus model UUO dengan pemberian obat standar ibersartan, sedangkan kelompok IV-VI merupakan kelompok-kelompok perlakuan yang diberikan kombinasi madu dan habbatussauda dalam dosis 0,675 mL dan 0,5 mL (dosis ½); 1,35 mL dan 1 mL (dosis 1); serta 2,7 dan 2 mL (dosis 2) masing-masing untuk tiap 200 gBB tikus per hari selama 21 hari. Pemberian madu dilakukan melalui pengenceran dengan air hingga didapatkan volume total 2,8 mL. Tikus model dilakukan tindakan dengan metode UUO selama 14 hari, dengan pengukuran kadar hemoglobin diukur dalam dua kali, pertama setelah pembuatan model UUO (*pretest*), dan setelah akhir pemberian perlakuan (pengobatan) atau *posttest*.



Hasil pengukuran kadar hemoglobin pretest dan posttest berikutnya disajikan secara deskriptif dalam bentuk rata-rata dan standar deviasi pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1.** Rata-rata dan Standar Deviasi Kadar Hb Pretest dan Posttest.

Kadar Hb pretest di kelompok I adalah yang tertinggi ( $13,14 \pm 0,53$ ) kadar Hb pretest di kelima kelompok tersebut tampak hampir serupa satu sama lain, dengan kadar pretest terendah dimiliki oleh kelompok VI ( $8,91 \pm 0,24$ ). Kadar Hb posttest di kelompok I merupakan yang tertinggi ( $13,01 \pm 0,54$ ), dan kelompok II memiliki kadar Hb posttest terendah ( $9,21 \pm 0,24$ ).



kadar Rincian deskripsi kadar Hb pretest-posttest antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1. Deskripsi Kadar Hb Pretest-Posttest dan selisihnya antar Kelompok**

Kelompok	Mean $\pm$ SD Kadar Hb (g/dL)		Selisih kadar Hb (g/dL)	<i>p-value</i>	
	<i>Pretest</i>	<i>Posttest</i>		<i>Shapiro wilk</i>	<i>Paired t-test</i>
I	13,14 $\pm$ 0,53	13,01 $\pm$ 0,54	-0,13 $\pm$ 0,06	0,051	0,006
II	9,41 $\pm$ 0,22	9,21 $\pm$ 0,24	-0,20 $\pm$ 0,04	0,814	<0,001
III	9,09 $\pm$ 0,18	12,32 $\pm$ 0,18	3,23 $\pm$ 0,27	0,951	<0,001
IV	8,93 $\pm$ 0,16	10,36 $\pm$ 0,13	1,44 $\pm$ 0,20	0,065	<0,001
V	9,12 $\pm$ 0,17	11,16 $\pm$ 0,11	2,04 $\pm$ 0,18	0,256	<0,001
VI	8,91 $\pm$ 0,24	12,03 $\pm$ 0,18	3,12 $\pm$ 0,17	0,447	<0,001

Tabel 4.1 juga menunjukkan selisih kadar Hb antara posttest dan pretest serta analisis sebaran normalitas data dan perbandingannya. Rata-rata selisih kadar Hb posttest-pretest pada kelompok I adalah sebesar -0,13  $\pm$  0,06 g/dL, sedangkan pada kelompok II sebesar -0,20  $\pm$  0,04 g/dL. Nilai rata-rata negatif menunjukkan bahwa kadar Hb pretest lebih tinggi daripada posttest. Sedangkan rata-rata kadar Hb posttest-pretest pada kelompok III sampai dengan VI masing-masing sebesar 3,23  $\pm$  0,27; 1,44  $\pm$  0,20; 2,04  $\pm$  0,18; dan 3,12  $\pm$  0,17 g/dL. Nilai rata-rata positif menunjukkan bahwa kadar Hb pretest lebih rendah daripada posttest. Adanya selisih antara rata rata kadar Hb pada masing masing kelompok mengekspresikan perubahan kadar Hb yang diakibatkan oleh perlakuan penelitian.

Data selisih kadar Hb pada tiap kelompok memiliki sebaran data normal, sehingga perbandingan kadar Hb posttest-pretest diuji secara parametrik dengan uji *paired t-test* dan didapatkan nilai  $p < 0,05$  pada tiap kelompoknya sehingga diartikan bahwa terdapat perbedaan kadar Hb yang

bermakna antara pretest dan posttest pada masing-masing kelompok. Pada kelompok I yaitu kelompok *sham operation* terdapat penurunan rata rata kadar hemoglobin dari saat pretest dan post test, tetapi masih berada pada kadar normal untuk hemoglobin tikus. Pada kelompok II yaitu kelompok kontrol negatif, penurunan rata-rata hemoglobin yang terjadi antara pretest dan post test dapat dikarenakan adanya progresivitas dari fibrosis akibat UUO yang tidak dilakukan intervensi.

Kadar Hb pretest-posttest antar kelompok juga dilakukan analisis normalitas sebaran data dan homogenitas variannya dengan uji Shapiro Wilk dan uji Levene untuk mengetahui terpenuhi tidaknya syarat penggunaan uji parametrik (*one way anova*). Hasil uji normalitas sebaran data dan homogenitas varian disajikan pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2. Hasil Analisis Normalitas Sebaran Data dan Homogenitas Varian Kadar Hb Pretest-Posttest antar Kelompok**

Kelompok	Shapiro Wilk*	
	Pretest	Posttest
I	0,158	0,054
II	0,738	0,649
III	0,563	0,942
IV	0,822	0,685
V	0,619	0,332
VI	0,264	0,978
<i>Levene Test*</i>	<0,001	<0,001

Keterangan: \* = *p-value*

Hasil analisis normalitas sebaran data dengan uji *Shapiro Wilk* didapatkan sebaran data kadar Hb berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), dan hasil analisis homogenitas varian dengan uji *Levene* didapatkan varian data kadar Hb diantara keenam kelompok tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Sebaran data kadar

Hb pretest maupun posttest semua normal sehingga syarat uji *one way anova* terpenuhi, dan hasil dari uji tersebut disajikan pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3. Hasil Analisis Perbandingan Kadar Hb Pretest-Posttest antar Kelompok**

<b>Kadar Hb</b>	<b>F hitung</b>	<b><i>p-value</i></b>
Pretest	175,310	<0,001
Posttest	131,766	<0,001

Analisis perbandingan kadar Hb antar keenam kelompok baik pretest maupun posttest didapatkan nilai  $p$  sebesar  $< 0,001$  menunjukkan terdapat perbedaan kadar Hb yang signifikan diantara keenam kelompok baik untuk kadar Hb pretest maupun posttest. Perbandingan kadar Hb antar dua kelompok menjadi diperlukan untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang merepresentasi signifikansi perbedaan tersebut. Perbandingan kadar Hb antar dua kelompok dilakukan dengan uji post hoc Tamhane karena homogenitas varian data tidak terpenuhi. Hasil uji tersebut disajikan pada Tabel 4.4 berikut:

**Tabel 4.4. Hasil Analisis Perbandingan Kadar Hb Pretest-Posttest antara Dua Kelompok**

Perbandingan Kelompok	<i>p-value</i>	
	Kadar Hb Pretest	Kadar Hb Posttest
I vs II	<0,001*	<0,001*
I vs III	<0,001*	0,492
I vs IV	<0,001*	0,004*
I vs V	<0,001*	0,018*
I vs VI	<0,001*	0,176
II vs III	0,430	<0,001*
II vs IV	0,067	<0,001*
II vs V	0,534	<0,001*
II vs VI	0,133	<0,001*
III vs IV	0,936	<0,001*
III vs V	1,000	<0,001*
III vs VI	0,980	0,438
IV vs V	0,800	<0,001*
IV vs VI	1,000	<0,001*
V vs VI	0,930	<0,001*

Perbandingan kadar Hb pretest antar dua kelompok yang signifikan ditunjukkan antara kelompok I dengan kelompok II sampai dengan kelompok VI ( $p < 0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa metode UUO berhasil membuat model dengan kadar Hb yang lebih rendah dari kadar Hb pada tikus normal. Perbandingan antar dua kelompok lainnya tidak signifikan ( $p > 0,05$ ), menunjukkan bahwa kadar Hb pada kelompok-kelompok tikus yang dibuat model UUO adalah serupa atau mencirikan kadar Hb sebelum pengobatan yang sebanding atau homogen.

Perbandingan kadar Hb posttest antar dua kelompok hampir semua signifikan ( $p < 0,05$ ) sedangkan perbandingan kadar Hb posttest antar dua kelompok yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ) ditunjukkan antara kelompok I yang merupakan kelompok tikus yang tidak diberikan perlakuan dengan III yaitu kelompok tikus kontrol positif, dan antara kelompok III dengan VI

yaitu kelompok tikus yang diberikan perlakuan pemberian madu dan habbatussauda dengan dosis 2 dosis (madu 2,025mL/200gBB dan ekstrak habbatussauda 0,1mL/200gBB).

#### 4.2. Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah 14 hari pasca tindakan UUO kelompok tikus memiliki rata-rata Hb yang lebih rendah dari pada normal atau kelompok tikus yang tidak dilakukan UUO. Hasil ini relevan dengan berbagai teori yang telah dikemukakan bahwa UUO mengakibatkan dilatasi tubular, perluasan interstitial, kehilangan massa tubulus proksimal, hipertrofi, hidronefrosis, infiltrasi leukosit, kematian sel epitel tubulus dan kemunculan fibroblast. Seluruh perubahan tersebut menghasilkan proses molekuler seperti perubahan dinamik akibat peregangan mekanis, apoptosis sel epitel tubulus, stres oksidatif serta inflamasi yang secara bersama-sama menyebabkan fibrosis tubulointerstitial ginjal (Martínez-Klimova *et al.*, 2019). Induksi stress oksidatif yang terjadi karena produksi berlebihan dari ROS akibat aktivasi dari sistem renin-angiotensin (RAS) oleh UUO berujung inflamasi dan kematian sel yang berkontribusi pada pengembangan fibrosis (Aranda-Rivera *et al.*, 2021).

Fibrosis interstitial menghasilkan miofibroblas yang menurunkan produksi Epo disebabkan karena fibroblas penghasil Epo bertransformasi menjadi miofibroblas sehingga mengganggu produksi Epo (Meran dan Steadman, 2011; Mise *et al.*, 2015; Sato dan Yanagita, 2022), sementara itu sebagian besar Epo (sekitar 90%) diproduksi oleh fibroblas peritubular

ginjal (Mise *et al.*, 2015). Penurunan produksi Epo berakibat pada supresi eritropoiesis sehingga kadar Hb dalam darah menurun (Bunn, 2013). Penurunan kadar Hb juga disebabkan karena fibrosis interstitial berkaitan dengan penurunan fungsi ginjal, yang tampak dari keterkaitan erat antara penurunan kadar Hb dengan penurunan GFR (Mise *et al.*, 2015).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi madu dan ekstrak habbatussauda dalam berbagai dosis (dosis ½; 1; dan 2 kali) dari dapat meningkatkan kadar hemoglobin tikus model UUO, hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Asfur dan Sadewo (2019) serta dosis ekstrak habbatussauda yang digunakan dalam penelitian Alkadri *et al.*, (2019) masing-masing terbukti meningkatkan kadar hemoglobin tikus yang diinduksi dengan UUO. Hasil tersebut ditunjukkan dari adanya perbedaan kadar Hb posttest antara kelompok IV, V dan VI dengan kelompok II. Kadar Hb kelompok IV, V dan VI lebih tinggi daripada kadar Hb di kelompok II ( $p < 0,001$ ) dengan selisih hemoglobin tertinggi didapat pada kelompok dosis 2 (madu 2,025mL/200gBB dan ekstrak habbatussauda 0,1mL/200gBB) atau kelompok VI. Madu dan ekstrak habbatussauda mampu meningkatkan kadar Hb pada tikus UUO karena memiliki sifat antianemik (Ashour, 2015; El-Shanshory *et al.*, 2019) adanya sifat antioksidan (Asfur and Sadewo, 2019) dan antiinflamasi (Fihri *et al.*, 2016; Tripathi *et al.*, 2020). Kemampuan madu tersebut ditunjukkan oleh fenol, flavonoid (Bakour *et al.*, 2017), vitamin, mineral (besi, tembaga), enzim antioksidan dan faktor-faktor lain



yang dapat menstimulasi sumsum tulang untuk memproduksi sel darah merah dan meningkatkan zat besi (Fihri *et al.*, 2016; Kiasari *et al.*, 2020).

Madu merupakan antioksidan alami yang mengandung flavonoid, asam askorbat, tokoferol, katalase dan senyawa fenol yang bekerja bersama-sama untuk menyediakan efek antioksidan yang sinergik dalam menangkal dan mengeliminasi radikal bebas (Bhalchandra, Alqadhi and Ninawe, 2018). Penelitian terdahulu juga menyebutkan bahwa madu mengandung antioksidan, seng, tembaga juga selenium dan terbukti dapat meredam stres oksidatif dan meningkatkan antioksidan dalam ginjal serta mampu meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus cedera ginjal akut akibat induksi streptozotosin. (Touzani *et al.*, 2022). Penelitian Hamouda *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa madu memiliki efek antioksidan dan perbaikan pada berbagai organ termasuk ginjal dari efek toksik induksi melamine formaldehid pada tikus jantan yang salah satunya dicirikan dengan peningkatan kadar Hb. Pada penelitian tersebut efek antioksidan ditunjukkan dari pemulihan aktivitas katalase dan glutathione peroksidase (Hamouda *et al.*, 2019). Madu juga memiliki sifat antimikrobal spektrum luas. Sifat ini dapat menurunkan kemungkinan infeksi dan membantu tubuh untuk melawan infeksi setelah infeksi terjadi. Sifat antimikrobal madu bekerja secara sinergis dengan antibiotik lain dan dapat membalikkan resistensi suatu bakteri terhadap antibiotik tersebut. (Israili, 2014; Szweda, 2017) Penyakit gagal ginjal kronis menyebabkan inflamasi kronik pada tubuh sehingga sistem imun tubuh melemah dan meningkatkan resiko infeksi.

(Shankar, Narasimhappa and N.S., 2021) Madu dapat membantu pencegahan dan pengobatan dari infeksi pada pasien dengan penyakit gagal ginjal kronik. Pada penelitian ini penyakit gagal ginjal kronik direpresentasikan oleh model UUO pada hewan coba, dengan pengendalian terhadap faktor luar seperti infeksi, sehingga efek antimikrobal madu tidak diteliti lebih lanjut.

Kemampuan antioksidan madu sekaligus dapat menghambat inflamasi karena keduanya yaitu inflamasi dan stres oksidatif saling berkaitan melalui berbagai jalur pensinyalan. ROS yang diproduksi oleh mitokondria memicu terekspresinya aneka faktor transkripsi seperti NF- $\kappa$ B yang memproduksi sitokin dan mediator-mediator proinflamasi serta TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$  yang menginduksi produksi ROS dari mitokondria. Hubungan ROS dengan sitokin-sitokin proinflamasi menghasilkan modifikasi metabolik dan seluler. Polifenol madu dapat bertindak sebagai agonis dari reseptor NF- $\kappa$ B dan TLR-4 yang terlibat dalam inisiasi inflamasi dan stres oksidatif (Ranneh *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa madu mampu memproteksi ginjal dari toksisitas cisplatin melalui penghambatan inflamasi dan aktivasi NF- $\kappa$ B (Hamad *et al.*, 2015).

Peningkatan kadar Hb pada kelompok IV, V, dan VI juga terjadi karena efek dari ekstrak habbatussauda, karena senyawa penting yang dimiliki yaitu thymoquinone dapat memproteksi ginjal dari cedera oleh berbagai sebab termasuk oleh induksi UUO. Mekanisme yang mendasari potensi proteksi habbatussauda dan thymoquinone adalah melalui aksi

antioksidan, antiinflamasi, antiapoptosis dan antifibrosis yang termanifestasi pada peran pengaturan sistem pertahanan antioksidan, pensinyalan NF- $\kappa$ B, dan pensinyalan TGF- $\beta$  (Hannan *et al.*, 2021).

Penelitian pada tikus Sprague Dawley model sindrom hepatorenal juga dapat menunjukkan bahwa pemberian minyak habbatussauda baik yang diberikan secara tunggal maupun dikombinasikan dengan minyak ikan atau minyak biji rami dapat meningkatkan kadar hemoglobin. Penelitian pada pasien penyakit ginjal kronik juga menunjukkan bahwa suplementasi habbatussauda pada pengobatan konservatif memiliki khasiat dan aman dalam mencegah perkembangan penyakit pada pasien Penyakit ginjal kronis stadium 3 dan 4. Salah satu khasiatnya yaitu meningkatkan kadar Hb sebesar 10,05% setelah 12 minggu suplementasi (Ansari *et al.*, 2016).

Thymoquinone merupakan senyawa aktif utama pada ekstrak habbatussauda dan memiliki kemampuan anti inflamasi dan anti oksidan pada berbagai jaringan. Thymoquinone menurunkan ekspresi dari NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , dan angiotensin II yang kemudian menghambat sistem RAS dan menurunkan ROS. (Hosseini *et al.*, 2018) Senyawa-senyawa yang terdapat dalam madu maupun ekstrak habbatussauda tampak memiliki efek sinergis terhadap kadar Hb tikus model UUO. Tikus yang diberikan perlakuan kombinasi habbatussauda dan madu mengalami kenaikan tingkat hemoglobin yang signifikan dibandingkan dengan kadar hemoglobin tikus pasca tindakan UUO saja.

Kombinasi madu dan ekstrak habbatussauda dosis 2 (madu 2,025mL/200gBB dan ekstrak habbatussauda 0,1mL/200gBB) adalah yang paling efektif pengaruhnya terhadap kadar Hb, yang dapat dilihat dari perbandingan kadar Hb antara kelompok III dan kelompok VI yang tidak signifikan. Hasil penelitian ini memberikan makna bahwa efek perbaikan ginjal oleh kombinasi madu dosis 2,70 mL dan ekstrak habbatussauda 2,0 mL per 200 gBB selama 21 hari sebanding dengan irbersartan, namun ketika dibandingkan dengan kelompok I (sham) kadar Hb di kelompok VI masih lebih rendah sehingga penambahan dosis ataupun durasi lama pemberian mungkin diperlukan. Hasil ini mendukung penelitian Ashfur dan sadewo yaitu pemberian madu 1,35mL/tikus/hari selama 14 hari berpengaruh terhadap fungsi ginjal dan penelitian Alkadri *et al.* yang menyatakan bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda memiliki efek sinergis sangat kuat pada dosis minyak habbatussauda 2,0 mL per KgBB (Asfur dan Sadewo, 2019)

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan yaitu belum dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian kombinasi madu dan ekstrak habbatussauda kepada presentasi fibrosis ginjal hewan model UUO. Keterbatasan lainnya adalah belum dilakukan pengukuran dari kadar Epo hewan coba, sehingga belum diketahui apakah pemberian perlakuan bekerja meningkatkan Epo. Selain itu belum dilakukan pemeriksaan kadar antioksidan madu ataupun ekstrak habbatussauda yang digunakan.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa:

1. Kadar hemoglobin pada tikus yang diinduksi UUO tanpa pemberian madu maupun ekstrak habbatussauda (*Nigella sativa L.*) pada hari ke-22 (*pretest*) adalah sebesar  $9,37 \pm 0,22$  g/dL.
2. Pemberian kombinasi madu dengan dosis 0,675 mL/200g berat badan tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 0,5 mL/200g berat badan tikus per hari berpengaruh terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi dengan UUO dengan rata rata hasil *post test*.
3. Pemberian kombinasi madu dengan dosis 1,35 mL/200g berat badan tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 1,0 mL/200g berat badan tikus per hari berpengaruh terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi dengan UUO dengan rata rata hasil *post test*.
4. Pemberian kombinasi madu dengan dosis 2,70 mL/200g berat badan tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 2,0 mL/200g berat badan tikus per hari berpengaruh terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi dengan UUO dengan rata rata hasil *post test*.
5. Dosis optimal dari pemberian madu dan habbatussauda terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi UUO adalah dosis 2 atau dosis yang diberikan kepada kelompok VI atau 2,70 mL/200gBB/tikus per hari dan ekstrak habbatussauda 2,0 mL/200gBB/tikus per hari.

6. Terdapat perbedaan pengaruh antara dosis dari kombinasi madu dan habbatussauda yang diberikan kepada tikus. Kombinasi madu dan ekstrak habbatussauda dosis terbesar (2,70 mL dan 2,0 mL) memberikan efek yang juga lebih besar terhadap kadar Hb pada tikus model UUO.

## 5.2. Saran

Saran yang peneliti ajukan untuk penelitian mendatang adalah:

1. Meneliti pengaruh pemberian kombinasi madu dan ekstrak habbatussauda pada presentasi area fibrosis dari ginjal tikus model UUO.
2. Meneliti pengaruh kombinasi madu dan ekstrak habbatussauda terhadap kadar Epo pada tikus model UUO.
3. Meneliti kadar anti oksidan dari madu dan ekstrak habbatussauda baik secara kombinasi maupun tunggal.





## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. *et al.* (2013) 'A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), pp. 337–352. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60075-1.
- Ahmad, M. F. *et al.* (2021) 'An updated knowledge of Black seed (*Nigella sativa* Linn.): Review of phytochemical constituents and pharmacological properties', *Journal of Herbal Medicine*, 25(September 2020), p. 100404. doi: 10.1016/j.hermed.2020.100404.
- Al-waili, N. S. (2003) 'Effects of Daily Consumption of Honey Solution on Hematological Indices and Blood Levels of Minerals and Enzymes in Normal Individuals', *Journal of Medicinal Food*, 6(2). doi: 10.1089/109662003322233549.
- Alkadri, S. L. F., Ilmiawan, M. I. and Handini, M. (2019) 'Efek Protektif Kombinasi Minyak Jintan Hitam dan Madu terhadap Hepatotoksitas pada Tikus Akibat Sisplatin', *eJournal Kedokteran Indonesia*, 7(2), pp. 101–108. doi: 10.23886/ejki.7.10740.
- Alvarez-suarez, J. M., Giampieri, F. and Battino, M. (2013) 'Honey as a Source of Dietary Antioxidants: Structures, Bioavailability and Evidence of Protective Effects Against Human Chronic Diseases', *Current Medicinal Chemistry*, pp. 621–638. doi: 10.2174/092986713804999358.
- Ansari, Z. M. *et al.* (2016) 'Evaluation of Efficacy and Safety of *Nigella Sativa* Oil Supplementation in Patients of Chronic Kidney Disease', *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), pp. 107–110.
- Aranda-Rivera, A. K. *et al.* (2021) 'Redox signaling pathways in unilateral ureteral obstruction (UUO)-induced renal fibrosis', *Free Radical Biology and Medicine*, 172, pp. 65–81. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.034.
- Asada, N. *et al.* (2011) 'Dysfunction of fibroblasts of extrarenal origin underlies renal fibrosis and renal anemia in mice', *Journal of Clinical Investigation*, 121(10), pp. 3981–3990. doi: 10.1172/JCI57301.
- Asfur, R. and 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(3), pp. 15–20. Available at: <https://kohesi.sciencemakarioz.org/index.php/JIK/article/view/67>.
- Ashour, T. (2015) 'Thymoquinone Therapy Improves Hyperglycemia, Erythrocyte Indices, Erythropoietin Production and Erythrocyte Osmotic Resistance in Rat Model of Streptozotocin-induced Diabetes', *British*

- Journal of Medicine and Medical Research*, 5(3), pp. 350–361. doi: 10.9734/bjmmr/2015/13409.
- Atkinson, M. A. and Warady, B. A. (2018) ‘Anemia in chronic kidney disease’, *Pediatric Nephrology*, 33(2), pp. 227–238. doi: 10.1007/s00467-017-3663-y.
- Badary, O. A., Hamza, M. S. and Tikamdas, R. (2021) ‘Thymoquinone: A promising natural compound with potential benefits for COVID-19 prevention and cure’, *Drug Design, Development and Therapy*, 15, pp. 1819–1833. doi: 10.2147/DDDT.S308863.
- Bakour, M. *et al.* (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), pp. 4205–4212. doi: 10.1007/s13197-017-2889-9.
- Bhalchandra, W., Alqadhi, Y. A. and Ninawe, A. S. (2018) ‘Ameliorative Role of Bee Honey and Royal Jelly Against Cisplatin Induced Alteration in Hematological Parameters in Male Wister Albino Rat’, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(4), p. 110. doi: 10.22159/ijpps.2018v10i4.23153.
- Bunn, H. F. (2013) ‘Erythropoietin’, *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(3). doi: 10.1101/cshperspect.a011619.
- Chaparro, C. M. and Suchdev, P. S. (2019) ‘Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries’, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1450(1), pp. 15–31. doi: 10.1111/nyas.14092.
- Chevalier, R. L., Forbes, M. S. and Thornhill, B. A. (2009) ‘Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy’, *Kidney International*, 75(11), pp. 1145–1152. doi: 10.1038/ki.2009.86.
- Croom, K. F. and Plosker, G. L. (2008) ‘Irbersartan; A review of its Use in Hypertension and Diabetic Nephropathy’, *Adis Drug Evaluation*, 68(11), pp. 1543–1569. doi: 10.2165/00003495-200868110-00008.
- Demir, H. (2006) ‘Effect of Black Cumin ( *Nigella sativa* ) on Heart Rate , Some Hematological Values , and Pancreatic  $\beta$  -Cell Damage in Cadmium-Treated Rats’, 110, pp. 151–162. doi: 10.1385/BTER:110:2:151.
- El-Shanshory, M. *et al.* (2019) ‘Nigella sativa improves anemia, enhances immunity and relieves iron overload-induced oxidative stress as a novel promising treatment in children having beta-thalassemia major’, *Journal of Herbal Medicine*, 16. doi: 10.1016/j.hermed.2018.11.001.

- Erejuwa, O. O. *et al.* (2021) 'Effects of honey supplementation on renal dysfunction and metabolic acidosis in rats with high-fat diet-induced chronic kidney disease', *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 32(1), pp. 1–10. doi: 10.1515/jbcpp-2019-0151.
- Fihri, A. F. *et al.* (2016) 'Protective Effect of Morocco Carob Honey Against Lead-Induced Anemia and Hepato-Renal Toxicity', *Cellular Physiology and Biochemistry*, 39(1), pp. 115–122. doi: 10.1159/000445610.
- Forbes, M. S., Thornhill, B. A. and Chevalier, R. L. (2011) 'Proximal tubular injury and rapid formation of atubular glomeruli in mice with unilateral ureteral obstruction: A new look at an old model', *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 301(1). doi: 10.1152/ajprenal.00022.2011.
- Gafter-Gvili, A., Schechter, A. and Rozen-Zvi, B. (2019) 'Iron Deficiency Anemia in Chronic Kidney Disease', *Acta Haematologica*, 142(1), pp. 44–50. doi: 10.1159/000496492.
- Garrido, P. *et al.* (2015) 'Iron-hepcidin dysmetabolism, anemia and renal hypoxia, inflammation and fibrosis in the remnant kidney rat model', *PLoS ONE*, 10(4), pp. 1–24. doi: 10.1371/journal.pone.0124048.
- Giknis, M. L. A. and Clifford, C. B. (2008) 'Clinical Laboratory Parameters for crl: WI(Han) Rats', *Charles River Laboratories*, pp. 1–14. Available at: [https://www.criver.com/sites/default/files/TechnicalResources/ClinicalLaboratoryParametersforCrl-WI\(Han\)Rats-March2008.pdf](https://www.criver.com/sites/default/files/TechnicalResources/ClinicalLaboratoryParametersforCrl-WI(Han)Rats-March2008.pdf).
- Hamad, R. *et al.* (2015) 'Honey feeding protects kidney against cisplatin nephrotoxicity through suppression of inflammation', *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, 42(8), pp. 843–8. doi: 10.1111/1440-1681.12433.Honey.
- Hammad, F. T. and Lubbad, L. (2016) 'The effect of thymoquinone on the renal functions following ischemia-reperfusion injury in the rat', *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 8(4), pp. 152–159.
- Hamouda, A. F. *et al.* (2019) 'Potential ameliorative effect of bee honey on experimentally induced melamine formaldehyde toxicity in male rats', *Journal of World's Poultry Research*, 9(2), pp. 146–157. doi: 10.36380/SCIL.2019.WVJ19.
- Hannan, M. A. *et al.* (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), p. 99078. doi: 10.3390/ijms22169078.
- Harmely, F. *et al.* (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), p. 88. doi: 10.25077/jsfk.5.2.88-93.2018.
- Hosseinian, S. *et al.* (2018) 'Nigella sativa extract is a potent therapeutic agent for renal inflammation, apoptosis, and oxidative stress in a rat model of unilateral ureteral obstruction', *Phytotherapy Research*, 32(11), pp. 2290–2298. doi: 10.1002/ptr.6169.
- Indonesian renal Registry (2012) '5 th Report Of Indonesian Renal Registry 2012', *Program Indonesia Renal Registry*, pp. 12–13. Available at: <http://www.pernefri-inasn.org/Laporan/5th Annual Report Of IRR 2012.pdf>.
- Israili, Z. H. (2014) 'Antimicrobial properties of honey', *American Journal of Therapeutics*, 21(4), pp. 304–323. doi: 10.1097/MJT.0b013e318293b09b.
- Junaedi, E. (2011) *Kedahsyatan Habbatussauda*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Kaissling, B. and Le Hir, M. (2008) 'The renal cortical interstitium: Morphological and functional aspects', *Histochemistry and Cell Biology*, 130(2), pp. 247–262. doi: 10.1007/s00418-008-0452-5.
- Kementrian Kesehatan RI (2018) *Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas 2018)*, *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Republik Indonesia*. Jakarta.
- Kiasari, S. A. M. *et al.* (2020) 'The effect of thyme honey on anemia in hemodialysis patients', *Nursing Practice Today*, 7(2), pp. 151–160.
- Kitamura, H. *et al.* (2008) 'Nonerythropoietic derivative of erythropoietin protects against tubulointerstitial injury in a unilateral ureteral obstruction model', *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23(5), pp. 1521–1528. doi: 10.1093/ndt/gfm842.
- Kovesdy, C. P. (2022) 'Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022', *Kidney International Supplements*, 12(1), pp. 7–11. doi: 10.1016/j.kisu.2021.11.003.
- Kusunoki, H. *et al.* (2013) 'Cardiac and Renal Protective Effects of Irbesartan via Peroxisome', *Journal of the American Heart Association*, pp. 1–12. doi: 10.1161/JAHA.113.000103.
- Li, J. *et al.* (2019) 'Red Blood Cell Lifespan Shortening in Patients with Early-Stage Chronic Kidney Disease', 518052(3688), pp. 1158–1165. doi: 10.1159/000502525.
- Madjid, S. dan (2009) 'Penyakit Gagal Ginjal Kronik dan Hemodialisa', in *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 5th edn. Jakarta: Internal Publishing.



- Marengo-Rowe, A. J. (2006) 'Structure-Function Relations of Human Hemoglobins', *Baylor University Medical Center Proceedings*, 19(3), pp. 239–245. doi: 10.1080/08998280.2006.11928171.
- Martínez-Klimova, E. *et al.* (2019) 'Unilateral ureteral obstruction as a model to investigate fibrosis-attenuating treatments', *Biomolecules*, 9(4), pp. 1–29. doi: 10.3390/biom9040141.
- Maulina, N. and Amalasari, G. (2018) 'Perbandingan Efektivitas Madu dengan Ekstrak Buah Bit (Beta Vulgaris) terhadap Peningkatan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Mencit Putih Jantan (Mus Musculus L) Strain Double Ditsch Webster', *Anatomica Medical Journal*, 1(3), pp. 167–178.
- Meran, S. and Steadman, R. (2011) 'Fibroblasts and myofibroblasts in renal fibrosis', pp. 158–167. doi: 10.1111/j.1365-2613.2011.00764.x.
- Miguel, M. G. and Faleiro, M. L. (2017) 'Honey as a Complementary Medicine'. doi: 10.1177/1178633717702869.
- Mise, K. *et al.* (2015) 'Impact of tubulointerstitial lesions on anaemia in patients with biopsy-proven diabetic nephropathy', *Diabetic Medicine*, 32(4), pp. 546–555. doi: 10.1111/dme.12633.
- Nuhu, F. and Bhandari, S. (2018) 'Oxidative stress and cardiovascular complications in chronic kidney disease, the impact of anaemia', *Pharmaceuticals*, 11(4), pp. 1–15. doi: 10.3390/ph11040103.
- Palupi, F. D. (2016) 'Pembuatan Formula Enteral Gagal Ginjal Kronik ( GGK ) Menggunakan Tepung Mocaf , Tepung Ikan Gabus dan Konsentrat Protein Kecambah Kedelai', (January 2015).
- Pan, S. *et al.* (2020) 'Local hepcidin increased intracellular iron overload via the degradation of ferroportin in the kidney', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 522(2), pp. 322–327. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.11.066.
- Perdana, W. Y. and Jacobus, D. J. (2015) 'Hepcidin dan Anemia Defisiensi Besi', *Cdk-235*, 42(12), pp. 919–926.
- PERNEFRI (2018) '11th report Of Indonesian renal registry 2018', *Indonesian Renal Registry (IRR)*, pp. 14–15.
- Portolés, J. *et al.* (2021) 'Anemia in Chronic Kidney Disease: From Pathophysiology and Current Treatments , to Future Agents', 8(March), pp. 1–14. doi: 10.3389/fmed.2021.642296.
- Rana, S. *et al.* (2018) 'Medicinal uses of honey: A review on its benefits to human health', *Progress in Nutrition*, 20(August), pp. 5–14. doi:

10.23751/pn.v20i1-S.6394.

- Ranneh, Y. *et al.* (2021) 'Honey and its nutritional and anti-inflammatory value', *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1), pp. 1–17. doi: 10.1186/s12906-020-03170-5.
- Sato, Y. and Yanagita, M. (2022) 'Renal anemia : from incurable to curable'. doi: 10.1152/ajprenal.00233.2013.
- Shaikh, H. and Aeddula R, N. (2022) 'Anemia of chronic renal disease', in *NCBI Bookshelf*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539871/>.
- Shankar, M., Narasimhappa, S. and N.S., M. (2021) 'Urinary Tract Infection in Chronic Kidney Disease Population: A Clinical Observational Study', *Cureus*, 13(1), pp. 1–9. doi: 10.7759/cureus.12486.
- Stauffer, M. E. and Fan, T. (2014) 'Prevalence of anemia in chronic kidney disease in the United States', *PLoS ONE*, 9(1), pp. 2–5. doi: 10.1371/journal.pone.0084943.
- Szweda, P. (2017) 'Antimicrobial Activity of Honey', *Honey Analysis*, (March). doi: 10.5772/67117.
- Touzani, S. *et al.* (2022) 'Arbutus Unedo Honey and Propolis Ameliorate Acute Kidney Injury, Acute Liver Injury, and Proteinuria via Hypoglycemic and Antioxidant Activity in Streptozotocin-Treated Rats', *Cellular Physiology and Biochemistry*, 56(1), pp. 66–81. doi: 10.33594/000000496.
- Tripathi, A. *et al.* (2020) 'Effect of Ultrasonication Process on the Physical Properties of Three Different Honey Varieties', *Ind. J. Pure App. Biosci.*, 8(6), pp. 667–674. doi: 10.18782/2582-2845.8562.
- Ucero, A. C. *et al.* (2014) 'Unilateral ureteral obstruction : beyond obstruction', pp. 765–776. doi: 10.1007/s11255-013-0520-1.
- Vaidya, R. S. and Aeddula, R. N. (2022) 'Chronic renal failure', in *The Scientific Basis of Urology, Second Edition*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535404/>.
- Webster, A. C. *et al.* (2016) 'Chronic Kidney Disease', *The Lancet*, 6736(16), pp. 1–15. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32064-5.
- Zaoui, A. *et al.* (2002) 'Effects of Nigella sativa fixed oil on blood homeostasis in rat', *Journal of Ethnopharmacology*, 79(1), pp. 23–26. doi: 10.1016/S0378-8741(01)00342-7.