

Pengaruh Pemberian Kombinasi Madu dan Habbatussauda Terhadap Fungsi dan Fibrosis Ginjal Tikus

Kamilia Dwi Utami

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung; dr.kamilia@unissula.ac.id

Ulfah Dian Indrayani

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung; ulfahdian@unissula.ac.id
(koresponden)

Israhnanto Isradji

Bagian Biologi Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung; israhnanto@gmail.com

Hanifah Tiara Putri

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung; hanifahtiaraputri31@gmail.com

Hilwa Qonita Almazia

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung; hilwaalmazia@gmail.com

Yusri Apriliani Karyono

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung; yusrikaryono@std.unissula.ac.id

ABSTRACT

Honey has ingredients that can provide antioxidant effects, while Black Seed contains thymoquinone which has antioxidant, anti-inflammatory and anti-microbial effects. This study aims to determine the effect of giving a combination of honey and Black Seed on urea levels in rats induced by Unilateral Ureteral Obstruction (UUO). This study used a pretest-posttest randomized controlled group design for urea and creatinine and a posttest only controlled group design for the percentage fraction of areas of renal fibrosis. The test subjects were 30 Rattus Wistar male white rats randomized into 5 groups namely group 1 (Sham Operation), group 2 (irbesartan 13.5 mg/kgBW/day), group 3 (combination of honey 0.675 mL/200 g/day and Black Seed 0.5 mL/kgBW), group 4 (combination of honey 1.35 mL/200 g/day and Black Seed 1.0 mL/kgBW), and group 5 (combination of honey 2.025 mL/200 g/day and Black Seed 2.0 mL/kgBW). Urea levels were examined using enzymatic methods. Analysis of urea levels pretest-posttest using One Way Anova followed by Post Hoc test. The results of measuring urea levels in the pretest showed an increase in urea levels in all UUO-induced groups, while measurements of urea levels in the posttest showed a decrease in urea levels compared to the pretest. Analysis of creatinine levels pretest using One Way Anova followed by Post Hoc test while posttest analysis using Kruskal Wallis followed by Mann Whitney test. The results of measuring creatinine levels in the pretest showed an increase in creatinine levels in all UUO-induced groups, while measurements of creatinine levels in the posttest showed a decrease in creatinine levels compared to the pre test. The percentage of kidney fibrosis area fraction in groups 1, 2, 3, 4, and 5 were as follows: 0%, 2%, 7%, 5.5%, and 1.5%, respectively. Analysis of the results of the area fraction of renal fibrosis using Kruskal Wallis followed by the Mann Whitney test. The results of measuring the area fraction of fibrosis showed a decrease in the percentage of area fraction in the test group. Administration of a combination of honey reduced urea and creatinine levels and the percentage of fibrous area fraction of rats induced by unilateral ureteral obstruction.

Keywords: Unilateral Ureteral Obstruction; honey; Black Seed; urea; creatinine; area fraction; kidney fibrosis

ABSTRAK

Madu memiliki kandungan yang dapat memberikan efek antioksidan, sedangkan habbatussauda mengandung thymoquinone yang memiliki efek antioksidan, anti inflamasi, dan anti mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum pada tikus yang di induksi *Unilateral Ureter Obstruction* (UUO). Penelitian ini menggunakan rancangan *pretest-posttest randomized controlled group* untuk ureum dan kreatinin serta *posttest only controlled group design* untuk persentase fraksi area fibrosis ginjal. Subjek uji adalah 30 ekor tikus putih jantan Rattus Wistar dirandomisasi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok 1 (*Sham Operation*), kelompok 2 (irbesartan 13,5 mg/kgBB/hari), kelompok 3 (kombinasi madu 0,675 mL/200 g/hari dan habbatussauda 0,5 mL/KgBB), kelompok 4 (kombinasi madu 1,35 mL/200 g/hari dan habbatussauda 1,0 mL/KgBB), dan kelompok 5 (kombinasi madu 2,025 mL/200 g/hari dan habbatussauda 2,0 mL/KgBB). Kadar ureum diperiksa dengan menggunakan metode enzimatik. Analisis kadar ureum *pretest-posttest* menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan uji *Post Hoc*. Hasil pengukuran kadar ureum *pretest* menunjukkan peningkatan kadar ureum pada semua kelompok yang diinduksi UUO, sedangkan pengukuran kadar ureum *posttest* menunjukkan penurunan kadar ureum dibandingkan *pretest*. Analisis kadar kreatinin *pretest* menggunakan *One Way Anova* dilanjutkan uji *Post Hoc* sementara analisis *posttest* menggunakan *Kruskal Wallis* dilanjutkan uji *Mann Whitney*. Hasil pengukuran kadar kreatinin *pretest* menunjukkan peningkatan kadar kreatinin pada semua kelompok yang diinduksi UUO, sedangkan pengukuran kadar kreatinin *posttest* menunjukkan penurunan kadar kreatinin dibandingkan *pre test*. Persentase fraksi area fibrosis ginjal pada kelompok 1, 2, 3, 4, dan 5 masing-masing sebagai berikut: 0%, 2%, 7%, 5,5%, dan 1,5%. Analisis hasil fraksi area fibrosis ginjal menggunakan *Kruskal Wallis* dilanjutkan uji *Mann Whitney*. Hasil pengukuran fraksi area fibrosis terdapat penurunan persentase fraksi area pada kelompok uji. Pemberian kombinasi madu menurunkan kadar ureum dan kreatinin serta persentase fraksi area fibrosis tikus yang diinduksi obstruksi ureter unilateral.

Kata kunci: *Unilateral Ureter Obstruction*; madu; habbatussauda; urea; kreatinin; fraksi area; fibrosis ginjal

PENDAHULUAN

Penyakit Ginjal Kronik (PGK) merupakan penyakit yang berkembang secara progresif dan ditandai dengan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS), peningkatan produksi anion superoksida, peningkatan *NAD(P)H oxidase* (Nox), penurunan sistem antioksidan, serta penurunan kadar superoksida dismutase dan katalase yang memicu apoptosis dan fibrosis sehingga menyebabkan peningkatan kadar ureum. Penggunaan model tikus UUO pada penelitian kali ini bertujuan untuk membuat penyakit ginjal kronik yang progresif dengan cara meligasi ureter dan menjadi *end-stage renal disease* (ESRD) dan meningkatkan tekanan darah sistolik pada tikus⁽¹⁾. Cedera yang dialami oleh tikus dalam onset akut seperti pada UUO akan menyebabkan perubahan laju filtrasi glomerulus, *renal blood flow* (RBF), serta edema interstisial dan pada keadaan lanjut menyebabkan hidronefrosis, renal atrofi, fibrosis interstitial, dan disfungsi dari ginjal, sementara hipertensi yang terjadi merupakan akibat penyakit ginjal kronik dan dapat mempengaruhi autoregulasi ginjal sehingga tekanan yang diteruskan terhadap ginjal akan semakin mencederai ginjal, tetapi mekanismenya masih belum diketahui⁽¹⁾.

Kreatinin serum merupakan salah satu dari indikator fungsi ginjal⁽²⁾. Kadar kreatinin serum yang tinggi mengindikasikan terganggunya fungsi ginjal⁽³⁾. Metode UUO dapat merepresentasi kondisi PGK karena UUO dapat menyebabkan kerusakan ginjal secara ipsilateral ataupun kontralateral. Proses pembersihan kreatinin terjadi di glomerulus, yang tergantung pada laju filtrasi glomerular (LFG) dan kondisi ginjal. Kerusakan ginjal yang terjadi akibat UUO menyebabkan hidronefrosis kronik sehingga LFG menurun karena adanya tekanan balik urin yang mengenai glomerulus. Peristiwa tersebut menyebabkan kreatinin tidak tereskreasi oleh urin melainkan kembali ke darah sehingga kadar kreatinin meningkat⁽⁴⁾⁽⁵⁾. *Unilateral ureteral obstruction* menyebabkan peningkatan kadar kreatinin melalui mediasi azotemia renal dan azotemia post renal secara bersamaan. Renal azotemia terjadi saat fungsi glomerular menurun sedangkan azotemia post renal terjadi ketika aliran urin terhambat. Urin akan kembali ke ginjal sehingga komponen non protein nitrogen serta berbagai toksin kembali masuk dalam aliran darah⁽⁴⁾. Fibrosis ginjal merupakan gambaran akhir dari gagal ginjal kronik yang dapat berupa fibrosis tubulointerstitial dan glomerulosklerosis⁽⁶⁾. Fibrosis ginjal ditandai adanya peningkatan matriks ekstraseluler secara berlebihan pada interstisial ginjal terutama kolagen tipe I dan III⁽⁷⁾.

Madu dapat menghentikan proses kerusakan sel sehingga terjadi perbaikan sel ginjal dan terjadi penurunan ureum⁽⁸⁾, sementara thymoquinone yang terkandung dalam habbatussauda dapat mencegah kerusakan dan perubahan struktur ginjal serta memiliki efek anti apoptosis⁽⁹⁾, penelitian yang menggabungkan kedua bahan ini menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan dapat meningkat 3-4 kali jika dibandingkan dengan konsumsi terpisah⁽¹⁰⁾, namun belum banyak penelitian yang menggabungkan kedua bahan tersebut. Kombinasi madu dan habbatussauda memiliki efek lebih menguntungkan terhadap kerusakan oksidatif pada jaringan ginjal dimana berperan sebagai antioksidan dan konsentrasi fenol yang lebih tinggi dibandingkan pemberian secara tunggal⁽¹¹⁾. Selain itu, kedua bahan tersebut dapat menurunkan malondialdehid (MDA) yang dapat menurunkan produksi matriks dan kolagen yang karena adanya penurunan aktivitas tissue-inhibitory matrix metalloproteinase (TIMP) dan peningkatan matrix metalloproteinase (MMP)⁽¹²⁾. Penelitian lain menyatakan bahwa madu memiliki efek antiradikal bebas⁽¹³⁾, efek antioksidan, dan efek protektif terhadap nefrotoksitas pada darah⁽¹⁴⁾. Penelitian lain menyatakan bahwa pemberian habbatussauda dapat memberikan efek protektif pada ginjal⁽¹⁵⁾. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum, kreatinin, dan fraksi area fibrosis ginjal yang diinduksi UUO.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi madu dan habbatussauda terhadap kadar ureum, kreatinin, dan fraksi area fibrosis ginjal pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi *Unilateral Ureteral Obstruction* (UUO).

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *pre-post test cotrolled group design*. Penelitian dilakukan selama satu bulan yaitu bulan Juni-Juli 2021 di Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

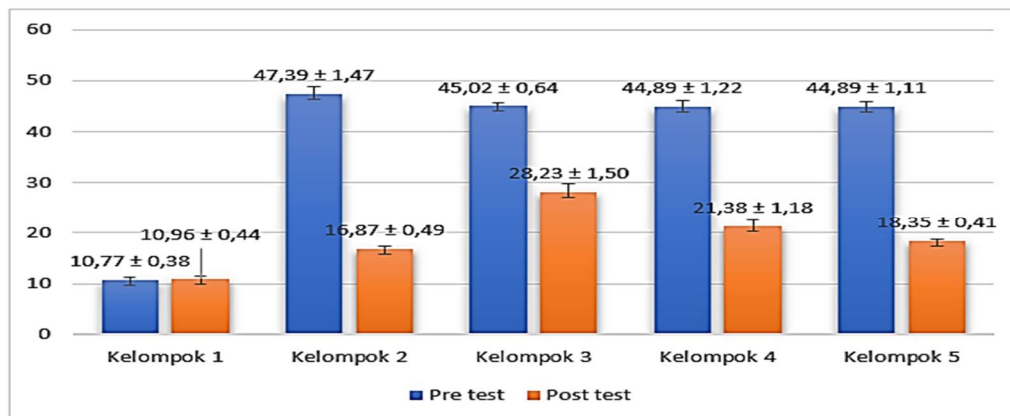
Madu yang digunakan adalah madu pramuka yang diberikan secara peroral satu kali sehari dalam bentuk cair dengan dosis 0,675 mL/200 g/hari, 1,35 mL/200 g/hari, dan 2,025 mL/200 g/hari. Habbatussauda yang digunakan dalam bentuk minyak dengan dosis 0,5 mL/KgBB, 1,0 mL/KgBB, 2,0 mL/KgBB yang diberikan secara peroral satu kali sehari. Pengukuran kadar ureum menggunakan metode enzimatis, dimana enzim urease akan menghidrolisis ureum dan menghasilkan ion ammonium yang kemudian diukur, pengukuran kadar kreatinin menggunakan metode reaksi Jaffe. Metode ini menggunakan 2 jenis reagen yang dibuat menjadi monoreagen. Perubahan warna yang tampak dibaca dengan panjang gelombang 492 nm⁽¹⁶⁾. Pada hari ke-22, tikus semua kelompok diterminasi dan diambil ginjalnya untuk pembuatan preparat. Preparat dengan pewarnaan *Sirius red* diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 400x sebanyak 5 lapang pandang secara acak. Fraksi area fibrosis ginjal dinilai dengan menggunakan *software Image J 52* dalam bentuk persentase.

Subjek uji penelitian adalah 30 ekor tikus jantan berusia 2-3 bulan dengan bobot 180-220 gram yang di randomisasi 5 kelompok. Kelompok 1 dilakukan *Sham Operation* tanpa pemberian kombinasi, kelompok 2 dilakukan UUO selama 14 hari dan diberikan irbesartan 13,5 mg/KgBB selama 21 hari, kelompok 3 dilakukan UUO selama 14 hari dan diberikan kombinasi madu 0,675 mL/200 g/hari dan habbatussauda 0,5 mL/KgBB selama 21 hari, kelompok 4 dilakukan UUO selama 14 hari dan diberikan kombinasi madu 1,35 mL/200 g/hari dan

habbatussauda 1,0 ml/KgBB 21 hari, kelompok 5 dilakukan UUO selama 14 hari dan diberikan kombinasi madu 2,025 mL/200 g/hari dan habbatussauda 2,0 ml/KgBB selama 21 hari. Analisis hasil kadar ureum *pre-post test* menggunakan uji T Berpasangan sementara hasil *pre test* maupun *post test* menggunakan *One Way Anova* dan uji *Post Hoc*. Analisis hasil kadar kreatinin *pre-post test* menggunakan uji T Berpasangan sementara hasil *pre test* menggunakan *One Way Anova* dan uji *Post Hoc* maupun *post test* menggunakan *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*. Analisis hasil fraksi area fibrosis ginjal menggunakan *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*.

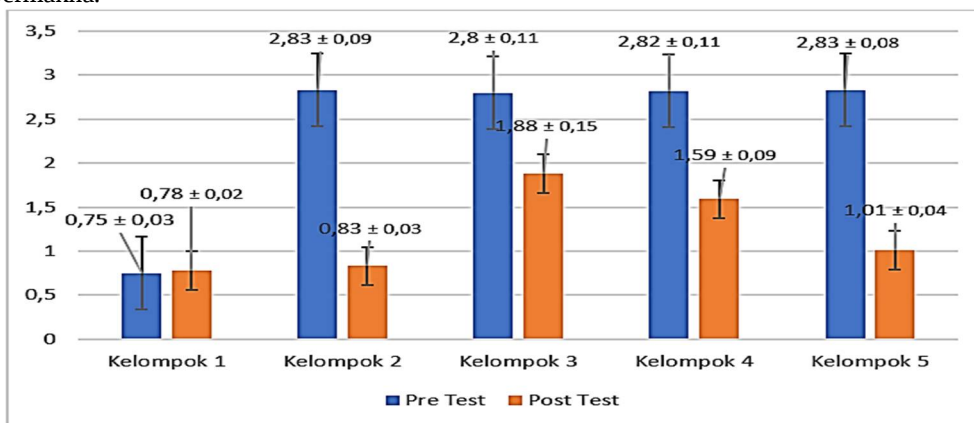
HASIL

Penurunan kadar ureum sesuai dengan dosis yang digunakan (Gambar 1). Kelompok 1 memiliki kadar ureum yang normal baik data *pre* maupun *post test*. Kelompok 2, 3, 4, dan 5 merupakan kelompok yang dilakukan UUO, memiliki data kadar ureum yang meningkat pada data *pre test*, sementara pada data *post test*, kelompok 2 merupakan kelompok kontrol positif memiliki penurunan kadar ureum terbanyak, dan pada kelompok uji, kelompok 5 memiliki penurunan yang paling mendekati kelompok 2.



Gambar 1. Grafik rerata kadar ureum (mg/dL) *pre test* dan *post test*

Hasil uji data *pre* dan *post test* menggunakan *One Way Anova* mendapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,005$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dan hasil uji *Post Hoc* pada data *pre test* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada semua kelompok yang dilakukan UUO ($p>0,005$) dan terdapat perbedaan dengan kelompok 1 ($p<0,005$), sementara pada *post test* adanya perbedaan yang signifikan pada semua kelompok yang dilakukan UUO ($p>0,005$). Hasil uji T Berpasangan pada kelima kelompok tikus diperoleh nilai $p<0,05$ dan IK tidak melewati nol, sehingga secara statistik selisih rerata kadar ureum *pre test* dan *post test* terdapat perbedaan yang bermakna.



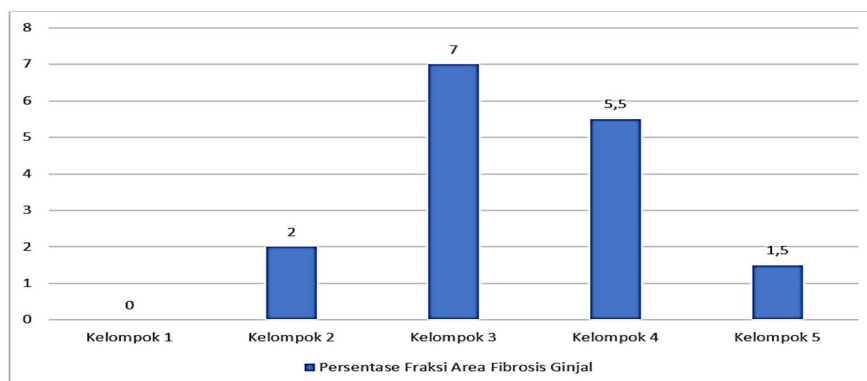
Gambar 2 Grafik rerata kadar kreatinin (mg/dL) *pre test* dan *post test*

Penurunan kadar kreatinin sesuai dosis yang digunakan (Gambar 2). Kadar kreatinin serum *pretest* di kelompok 1 adalah yang terendah, sedangkan pada kelompok 2-5 tampak lebih tinggi daripada di kelompok 1. Rerata kadar kreatinin serum di kelompok 2-5 tersebut relatif serupa. Kadar kreatinin serum *pretest* dan *posttest* di kelompok 1 relatif serupa, sedangkan pada kelompok 2-5 rerata kadar kreatinin serum *posttest* tampak lebih rendah daripada *pretest*.

Hasil uji data *pre test* menggunakan *One Way Anova* mendapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dan hasil uji data *post test* menggunakan *Kruskal Wallis* mendapatkan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hasil uji *Post Hoc* pada data *pre test*

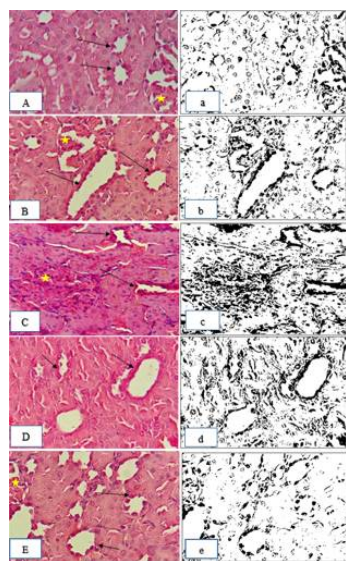
menunjukkan antara kelompok 1 dengan kelompok 2 sampai dengan kelompok 5 ($p < 0,05$), sementara pada *post test* menggunakan uji *Mann Whitney* terdapat perbedaan yang signifikan pada semua kelompok yang dilakukan UUO ($p > 0,05$). Hasil uji T Berpasangan pada kelima kelompok tikus diperoleh nilai $p < 0,05$ dan IK tidak melewati nol, sehingga secara statistik selisih kadar ureum *pre test* dan *post test* terdapat perbedaan yang bermakna.

Persentase fraksi area fibrosis ginjal (Gambar 3). Berdasarkan grafik tersebut diketahui bahwa median persentase fibrosis tertinggi ditunjukkan pada kelompok kelompok 3, kemudian diikuti pada kelompok 4. Kelompok 5 yang lebih rendah dan hampir mendekati kelompok 2. Sedangkan, fibrosis terendah ditunjukkan pada kelompok 1.



Gambar 3. Median persentase fraksi area fibrosis ginjal

Distribusi data sebagian besar kelompok tidak normal dan variannya juga tidak homogen setelah uji *Shapiro Wilk* dan uji *Lavene's test*, maka dianalisis lebih lanjut dengan uji *Kruskal Wallis* dan diperoleh nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) artinya terdapat perbedaan persentase fibrosis yang bermakna di antara kelima kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang persentase fibrosisnya berbeda secara signifikan, maka dilanjutkan uji *Mann Whitney*. Hasil uji tersebut diperoleh bahwa adanya perbedaan secara bermakna terhadap tiap pasangan kelompok ($p < 0,05$), kecuali pasangan kelompok 5 dan 2 dengan $p = 0,241$.



Keterangan:

Hasil pengamatan preparat dengan mikroskop (huruf besar) dan hasil dari *Software Image J* (huruf kecil).

A dan a: kelompok kontrol negatif (KK1),

B dan b: kelompok kontrol positif (KK2),

C dan c: kelompok perlakuan 1 (KP1),

D dan d: kelompok perlakuan 2 (KP2),

E dan e: kelompok perlakuan 3 (KP3). Tanda panah menunjukkan area tubulointerstitial dan warna kemerahan menandakan adanya deposisi kolagen (fibrosis). Tanda bintang menunjukkan glomerulus.

Gambar 4. Gambaran histopatologi ginjal tikus pewarnaan Sirius red (400x)

PEMBAHASAN

Cidera dan inflamasi yang disebabkan oleh obstruksi ureter mengakibatkan stress mekanik dan hidronefrosis sehingga menyebabkan peregangan epitel ginjal dan tubulus sehingga memicu stress oksidatif dan mengakibatkan gangguan fungsi ginjal, seperti peningkatan kadar ureum karena apoptosis dan fibrosis pada sel. Pembentukan myofibroblas akan menyebabkan fibrosis ginjal dengan beberapa sel yang berkontribusi didalamnya, seperti epithelial mesenchymal transition (EMT), sel yang berasal dari derivat sumsum tulang, sel endotel, perisit atau fibroblast perivaskular, dan fibroblast ekstrarenal⁽¹⁷⁾. UUO akan menginduksi fibrosis interstitial serta cidera tubular sehingga terjadi gangguan arsitektur ginjal sehingga terjadi peningkatan jumlah sel apoptosis yang dikaitkan peningkatan regulasi ekspresi mediator inflamasi, seperti ICAM-1, MCP-1, TLR-4 yang membantu mekanisme kerusakan ginjal karena fibrosis⁽¹⁷⁾. Inflamasi yang terjadi merupakan hasil dari stress oksidatif, aktivasi RAAS, dan stimulasi sitokin dimana RAAS akan menginduksi peningkatan ROS oleh Nox dan supresi Nrf2 serta merangsang produksi faktor yang dapat memicu migrasi leukosit dan inflamasi seperti TGF-

$\beta 1$, TNF- α , MCP-1, VCAM-1, dan NF- κ B⁽²⁾. ROS akan memicu hipertensi melalui jalur angiotensin II dengan mekanisme yang rumit seperti inflamasi, remodelling, kalsifikasi, dan atherosclerosis⁽¹⁾. Penelitian yang dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa tikus yang dilakukan UUO selama dua minggu tanpa pemberian terapi akan mengalami fibrosis interstitial dan cedera tubular yang disertai peningkatan kadar fungsi ginjal, kadar TGF- $\beta 1$, apoptosis sel epitel, serta mediator inflamasi⁽¹⁷⁾. Penelitian sebelumnya bahwa UUO yang dikenakan pada tikus betina Sprague Dawley menyebabkan peningkatan kadar kreatinin serum mulai dari minggu I sampai dengan minggu IV, dengan peningkatan tertinggi pada minggu IV yaitu sekitar 1,2-1,6 g/dL⁽⁴⁾. Metode UUO dapat merepresentasi kondisi PGK karena UUO dapat menyebabkan kerusakan ginjal secara ipsilateral ataupun kontralateral. Proses pembersihan kreatinin terjadi di glomerulus, yang tergantung pada laju filtrasi glomerular (LFG) dan kondisi ginjal. Kerusakan ginjal yang terjadi akibat UUO menyebabkan hidronefrosis kronik sehingga LFG menurun karena adanya tekanan balik urin yang mengenai glomerulus. Peristiwa tersebut menyebabkan kreatinin tidak teresekresi oleh urin melainkan kembali ke darah sehingga kadar kreatinin meningkat⁽⁴⁾⁽⁵⁾. UUO menyebabkan peningkatan kadar kreatinin melalui mediasi azotemia renal dan azotemia post renal secara bersamaan. Renal azotemia terjadi saat fungsi glomerular menurun sedangkan azotemia post renal terjadi ketika aliran urin terhambat. Urin akan kembali ke ginjal sehingga komponen non protein nitrogen serta berbagai toksin kembali masuk dalam aliran darah⁽⁴⁾. Adanya urin stasis yang disebabkan oleh UUO akan menyebabkan penumpukan bakteri *coagulase negative Staphylococcus (CONS) non-saprophyticus species* sehingga mengakibatkan sistitis dan pyelonephritis dibagian korteks dan medulla dimana duktus kolektivus akan tampak medulla yang melebar dengan sitoplasma terlihat rata, nukleus yang reaktif, dan degenerasi sel luminal konsisten yang disertai dengan nekrosis tubular akut⁽¹⁸⁾.

Pemberian irbesartan pada kelompok 2 dapat menurunkan kadar ureum, hal tersebut mendukung penjelasan bahwa irbesartan merupakan obat golongan ARB yang memiliki mekanisme kerja yaitu memblokir reseptor Angiotensin II⁽¹⁹⁾ sehingga terjadi vasodilatasi yang menyebabkan penurunan tahanan vaskuler perifer serta penurunan retensi natrium dan air yang mengakibatkan penurunan tekanan darah⁽²⁰⁾. Efek renoprotektif disertai peningkatan ekspresi protein HGF di ginjal karena aktivasi PPAR γ dan blokade AT1R bebas akan mengurangi fibrosis ginjal melalui efek antifibrotik melalui jalur PPAR γ – HGF dan blokade AT1R bebas serta mengurangi infiltrasi makrofag dan mengurangi area myofibroblas⁽²¹⁾, selain itu proses penekanan persinyalan redoks secara signifikan oleh irbesartan menjadi renoprotektif melalui blockade reseptor Angiotensin II karena inhibisi inflamasi dan EMT serta penurunan stress oksidatif yang disebabkan oleh ekspresi HGF lokal yang diinduksi PPAR γ ⁽²¹⁾. Efek irbesartan dalam menurunkan kadar kreatinin ini relevan dengan temuan penelitian sebelumnya bahwa pemberian irbesartan dapat meningkatkan fungsi ginjal pada mencit db/db diabetik yang salah satunya ditunjukkan dengan penurunan kadar kreatinin serum⁽²²⁾. Mekanisme penurunan kadar kreatinin oleh irbesartan terjadi melalui penghambatan aktivitas Angiotensin II melalui perantara reseptor Angiotensin 1 (AT1)⁽²³⁾. Penghambatan aktivitas RAS dapat meminimalkan hipoksia jaringan ginjal sehingga menghambat progresifitas CKD⁽²⁴⁾.

Kelompok 3 mengalami penurunan kadar ureum tetapi belum mencapai batas normal, hal tersebut diduga karena pemberian half dose akan menyebabkan peningkatan SOD dan katalase yang lebih rendah⁽²⁵⁾ serta peningkatan kadar TSA dan penurunan kadar MDA yang lebih rendah⁽²⁶⁾, selain itu penurunan nitrit oksida yang lebih rendah diduga memberikan perbaikan struktur ginjal yang lebih rendah⁽⁹⁾. Kelompok 4 juga mengalami penurunan kadar ureum tetapi masih belum mencapai batas normal, sementara kelompok 5 mengalami penurunan kadar ureum yang hampir mendekati kelompok kontrol, dan hal tersebut mendukung penjelasan bahwa pemberian kombinasi madu dan habbatussauda dapat meningkatkan efek antioksidan 3-4 kali lipat⁽¹⁰⁾, sehingga hal tersebut dapat membuktikan bahwa pemberian kombinasi tersebut dapat menjadi alternatif pengobatan penyakit ginjal kronik dan sebagai proteksi terhadap ginjal. Madu diduga mengandung serta vitamin C, A, E, asam organik, asam fenolik, flavonoid, dan beta karoten sebagai antioksidan yang bekerjasama melindungi sel normal dan menetralkan radikal bebas dengan meredam radikal singlet oksigen⁽¹³⁾. Habbatussauda diduga mengandung *thymoquinone* akan menghambat produksi angiotensin II sehingga menurunkan stress oksidatif yang disebabkan oleh kandungan total renal thiol yang lebih tinggi, penurunan apoptosis, serta penurunan kadar protein TNF- α , Angiotensin II, dan MCP-1 karena proses UUO⁽²⁾. Efek penurunan kadar kreatinin serum memperlihatkan pola *dose dependent manner*, dosis kombinasi madu dan habbatussauda yang lebih tinggi menghasilkan penurunan kadar kreatinin serum yang secara bermakna juga lebih tinggi. Semakin tinggi dosis madu dan habbatussauda, semakin menurun kadar kreatininnya. Pada kelompok 5 diberikan efek penurunan kadar kreatinin serum yang lebih superior dibandingkan dengan dua dosis lainnya (kelompok 3 dan 4). Hasil ini disebabkan karena dosis yang lebih tinggi memiliki kandungan senyawa aktif yang juga lebih tinggi. Efek sinergis dari penggunaan madu dan habbatussauda selama 21 hari juga telah ditunjukkan dalam penelitian sebelumnya pada tikus Wistar model nefrotoksitas akibat induksi cisplatin dalam menurunkan tingkat stres oksidatif yang direpresentasi dengan penurunan kadar malondialdehid (MDA) ginjal⁽¹¹⁾. Kelompok 5 memiliki efek kombinasi paling baik dan hampir sama dengan kelompok 2 yang menggunakan irbesartan sebagai pembanding. Namun, persentase kelompok 5 lebih mendekati persentase dari kelompok 1 yang diberikan sham operation. Madu dan habbatussauda sebagai antioksidan dapat menurunkan radikal bebas yang dapat berperan baik sebagai anti-fibrotik ataupun anti-hipertensi. Seiring dengan itu, terjadi peningkatan *nitric oxide* (NO) yang menyebabkan vasodilatasi dan penurunan tahanan perifer total sehingga terjadi penurunan tekanan darah yang semula meningkat akibat stress oksidatif⁽²⁷⁾. Radikal bebas dan ROS secara berlebihan menyebabkan stress oksidatif yang dapat merusak membran lipid sel dan menghasilkan produk akhir berupa MDA yang sering digunakan sebagai biomarker stress oksidatif⁽²⁷⁾.

Keterbatasan dalam penelitian ini antara lain tidak adanya penambahan variasi dosis kombinasi sehingga belum diketahui dosis minimal dan optimal, belum diketahuinya senyawa aktif yang lebih dominan serta interaksi antar zat aktif secara detail serta pemeriksaan kadar antioksidan.

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi madu dan habbatussauda terbukti menurunkan kadar ureum, kreatinin, dan persentase fraksi area fibrosis ginjal tikus jantan galur Wistar.

DAFTAR PUSTAKA

1. Susanto A, Purwanto B, Putranto W, Tri R, Dewi K, Suseno A, et al. Unilateral Ureteral Obstruction as a Model of Kidney Fibrosis and Increasing of Systolic Blood Pressure in Mice. *Indones J Kidney Hypertens*. 2019;2(3).
2. Martínez-Klimova E, Aparicio-Trejo OE, Tapia E, Pedraza-Chaverri J. Unilateral ureteral obstruction as a model to investigate fibrosis-attenuating treatments. *Biomolecules*. 2019;9(4).
3. Arjani I. Gambaran Kadar Ureum Dan Kreatinin Serum Pada Pasien Gagal Ginjal Kronis (Ggk) Yang Menjalani Terapi Hemodialisis Di Rsud Sanjiwani Gianyar. *Meditory J Med Lab*. 2017;4(2):145–53.
4. Arifianto D, Adji D, Sutrisno B, Rickiawan N. Renal Histopathology, Blood Urea Nitrogen and Creatinine Levels of Rats With Unilateral Ureteral Obstruction. *Indones J Vet Sci*. 2020;1(1):1–9.
5. El-Hakim MAHA, Abd Ellah MR, Youssef HA, Saleh AS, Hassanein KMA. Effect of unilateral ureteral ligation on blood constituents, renal histopathology and ultrasonography in dogs. *J Anim Vet Adv*. 2011;10(3):356–64.
6. Cho MH. Renal fibrosis. *Korean J Pediatr*. 2010;53(7):735–40.
7. Hong W, Zhang G, Lu H, Guo Y, Zheng S, Zhu H, et al. Epithelial and interstitial Notch1 activity contributes to the myofibroblastic phenotype and fibrosis. *Cell Commun Signal*. 2019;17(1):1–16.
8. Asfur R, Sadewo G. Pengaruh Pemberian Madu Terhadap Fungsi Ginjal (Ureum dan Kreatinin) Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Tuak. *J Ilm Kohesi*. 2019;3(2):88–92.
9. Oktaria R, Dewi R, Sari P, Studi P, Dokter P, Kedokteran F, et al. Efek Protektif Thymoquinone Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley yang Diinduksi Rifampisin Thymoquinone Protective Effect on Kidney of Sprague dawley Strains White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced. 2019;6:80–4.
10. Alkadri SLF, Ilmiawan MI, Handini M. Efek Protektif Kombinasi Minyak Jintan Hitam dan Madu terhadap Hepatotoksisitas pada Tikus Akibat Sisplatin. *eJournal Kedokt Indones*. 2019;7(2).
11. Noviana R, Ilmiawan MI, Handini M. Synergistic Protective Effect of Commercial Nigella Sativa Oil and Honey Combination against Cisplatin-induced Nephrotoxicity in Rats Efek Protektif Sinergis Kombinasi Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Komersial dan Madu terhadap Nefrotoksisitas pada. *J Biotech Medisiana Indones*. 2020;9(1):57–66.
12. Safithri F, Fauziyah AN, Hermayanti D. Penurunan Stres Oksidatif Setelah Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Pada Tikus Model Fibrosis Hati. *Saintika Med*. 2018;14(2):81–6.
13. Oka Adi Parwata I, Ratnayani K, Listya A. Aktivitas Antiradikal Bebas Serta Kadar Beta Karoten Pada Madu Randu (*Ceiba pentandra*) Dan Madu Kelengkeng (*Nephelium longata* L.). *J Chem*. 2010;4(1):54–62.
14. Bakour M, Al-Waili NS, El Menyiy N, Imtara H, Figuira AC, Al-Waili T, et al. Antioxidant activity and protective effect of bee bread (honey and pollen) in aluminum-induced anemia, elevation of inflammatory makers and hepato-renal toxicity. *J Food Sci Technol*. 2017 Dec 1;54(13):4205–12.
15. Basarslan F, Yilmaz N, Ates S, Ozgur T, Tutanc M, Motor VK, et al. Protective effects of thymoquinone on vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2012;31(7):726–33.
16. Verdiansah. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CDK*. 2016;43(2):148–54.
17. Arfian N, Muflikhah K, Soeyono SK, Sari DCR, Tranggono U, Anggorowati N, et al. Vitamin D attenuates kidney fibrosis via reducing fibroblast expansion, inflammation, and epithelial cell apoptosis. *Kobe J Med Sci*. 2016;62(2):E38–44.
18. Becknell B, Mohamed AZ, Li B, Wilhide ME, Ingraham SE. Urine stasis predisposes to urinary tract infection by an opportunistic uropathogen in the Megabladder (Mgb) mouse. *PLoS One*. 2015 Sep 24;10(9).
19. Benowitz NL. Farmakologi Dasar dan Klinik. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. 2007. 161–163 p.
20. Harmely F, Nasrul E, Umar S, Zaini E, Aldi Y. Pengaruh Dispersi Padat Irbesartan-Poloxamer 188 Terhadap Tekanan Darah dan Kadar Nitric Oxide (NO) Pada Tikus Putih Jantan Hipertensi. *J Sains Farm Klin*. 2018;5(2):88.
21. Kusunoki H, Taniyama Y, Rakugi H, Morishita R. Cardiac and renal protective effects of irbesartan via peroxisome proliferator-activated receptor- γ -hepatocyte growth factor pathway independent of angiotensin II Type 1a receptor blockade in mouse model of salt-sensitive hypertension. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(2):1–12.
22. Wang C, Min C, Rong X, Fu T, Huang X, Wang C. Irbesartan can improve blood lipid and the kidney function of diabetic nephropathy. *Discov Med*. 2015;20(108):67–77.
23. Destiani DP, Rina S, Eli H, Ellin F, Syahrul N. Evaluasi Penggunaan Obat Antihipertensi Pada Pasien Rawat Jalan Di Fasilitas Kesehatan Rawat Jalan Pada Tahun 2015 Dengan Metode Atc/Ddd. *Farmaka*. 2016;14(2):19–25.
24. Liu ZZ, Bullen A, Li Y, Singh P. Renal oxygenation in the pathophysiology of chronic kidney disease. *Front Physiol*. 2017;8(JUN):1–9.
25. Yuniastuti A, Kamilatussainah, Sasi FA. Pengaruh Pemberian Madu Kelengkeng terhadap Aktivitas Enzim Superoxide Dismutase dan Katalase Pada Tikus Yang Diinduksi Pb Asetat. *Pros Semin Nas SAINS DAN Teknol* 6 2015. 2015;1(1):100–3.
26. Kamilatussainah, Yuniastuti A, Iswari R. Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar TSA Dan MDA Tikus Putih Yang Diinduksi Timbal (Pb). *J MIPA Unnes*. 2016;38(2):108–14.
27. Leong XF, Rais Mustafa M, Jaarin K. Erratum: Nigella sativa and Its Protective Role in Oxidative Stress and Hypertension (Evidence-based Complementary and Alternative Medicine). *Evidence-based Complement Altern Med*. 2013;2013.