

**EFEK PROTEKTIF *THYMOQUINONE* TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) GALUR
Sprague dawley YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN**

(Skripsi)

**Oleh :
RIKA OKTARIA**



**UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

**EFEK PROTEKTIF *THYMOQUINONE* TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) GALUR
Sprague dawley YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN**

Oleh
RIKA OKTARIA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

**Pada
Program Studi Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2017**

ABSTRACT

PROTECTIVE EFFECT OF THYMOQUINONE ON KIDNEY HISTOPATHOLOGY APPEARANCE OF *Sprague dawley* STRAIN WHITE RAT (*Rattus norvegicus*) INDUCED RIFAMPICIN

By
Rika Oktaria

Background: Rifampicin is one of the first-line therapy from Tuberculosis. The increase of Tuberculosis cases every year also cause the use of rifampicin highly increase. The excessive use of rifampicin can give side effects such as kidney damage. Damage to the kidney can be treated with antioxidant compounds. One of the compounds that can be used is thymoquinone. This study aims to find out whether thymoquinone can give protective effect on kidney histopathology appearance of *Sprague dawley* strain white rat (*Rattus norvegicus*) induced rifampicin.

Methods: This study is an experimental study using 25 male white rats which was divided into 5 groups: K1 (rats with no treatments), K2 (rats given rifampicin 100mg/100gBB), P1, P2 and P3 (given rifampicin 100 mg/100gBB and thymoquinone in different doses: 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB and 20 mg/kgBB) for 14 days.

Results: The result of this study shows that the average score of kidney damage are K1: 1,28, K2: 3,16, P1: 2,08, P2: 2,12, P3: 2,88. The data obtained is examined by *Kruskal-Wallis* test which showed significant difference $p=0,02$ ($p<0,05$). This conclusion of this study is that there is thymoquinone protective effect on kidney histopathology appearance of *Sprague dawley* strain white rat (*Rattus norvegicus*) induced rifampicin.

Keywords: kidney histopathology, rifampicin, thymoquinone

ABSTRAK

EFEK PROTEKTIF *THYMOQUINONE* TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN

Oleh
Rika Oktaria

Latar Belakang: Rifampisin merupakan salah satu terapi lini pertama dari Tuberkulosis. Peningkatan kasus Tuberkulosis setiap tahun menyebabkan penggunaan rifampisin juga sangat tinggi. Penggunaan rifampisin yang berlebihan dapat menyebabkan efek samping berupa kerusakan ginjal. Kerusakan pada ginjal tersebut dapat diatasi dengan senyawa antioksidan. Salah satu antioksidan yang dapat digunakan adalah *thymoquinone*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah *thymoquinone* dapat memberikan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental menggunakan 25 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu kontrol 1 (K1) tikus yang tidak diberikan perlakuan, kontrol 2 (K2) diberikan rifampisin dosis 100 mg/100gBB, P1, P2 dan P3 diberikan rifampisin 100 mg/100gBB dan *thymoquinone* dengan dosis berbeda yaitu 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB dalam waktu 14 hari.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata skor kerusakan ginjal pada K1: 1,28, K2: 3,16, P1: 2,08, P2: 2,12, P3: 2,88. Data yang diperoleh diuji dengan Uji *Kruskal-Wallis* didapatkan perbedaan bermakna $p= 0,02$ ($p<0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah terdapat efek protektif *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

Kata Kunci: histopatologi ginjal, rifampisin, *thymoquinone*

Judul Skripsi : **EFEK PROTEKTIF *THYMOQUINONE*
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI
GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR
Sprague dawley YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN**

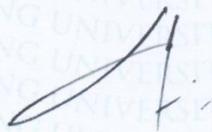
Nama Mahasiswa : Rika Oktaria

No. Pokok Mahasiswa : 1318011142

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI
Komisi Pembimbing



dr. Susianti, S.Ked., M.Sc
NIP 19780805 200501 2 003



dr. Ratna Dewi Puspita, S.Ked., Sp. OG
NIP 19800415 201404 2 001

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 19701208 200112 1 001

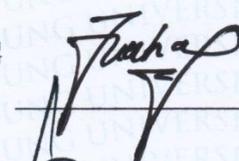
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **dr. Susianti, S.Ked., M.Sc**

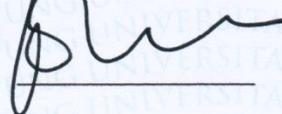


Sekretaris : **dr. Ratna Dewi Puspita, S.Ked., Sp.OG**

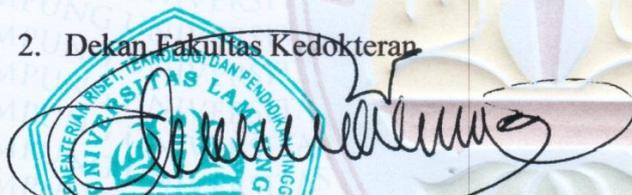


Penguji

Bukan Pembimbing : **Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes**



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP. 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 Januari 2017

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa :

1. Skripsi dengan judul **“EFEK PROTEKTIF *THYMOQUINONE* TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) GALUR *Sprague dawley* YANG DIINDUKSI RIFAMPISIN”** adalah hasil karya sendiri dan tidak ada penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, Januari 2017

Pembuat Pernyataan



Rika Oktaria

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 20 Juni 1995, sebagai anak ketujuh dari tujuh bersaudara dari Bapak Adnan dan Ibu Jasmani.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) di TK Pratama Bandar Lampung, Sekolah Dasar (SD) di SDN 2 Rawa Laut Bandar Lampung pada tahun 2001, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMPN 5 Bandar Lampung pada tahun 2007 dan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 10 Bandar Lampung pada tahun 2010.

Tahun 2013, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Unuversitas Lampung melalui jalur Undangan Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa aktif dalam Lembaga Kemahasiswaan Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina FK Unila pada tahun 2013/2015. Penulis juga aktif dalam Lembaga Kemahasiswaan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FK Unila sebagai EA BEM pada tahun 2013/2014.

“Dengan Nama ALLAH Yang Maha
Pengasih, Maha Penyayang”
(Q.S. Al-Fatihah:1)

Persembahkan sederhana teruntuk Ibu,
Bapak, dan Kakak-kakakku atas segala doa
dan kasih sayang yang terus menguatkan
dalam LELAH
dan mengubahnya menjadi LILLAH, ikhlas
karena ALLAH.

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad S.A.W.

Skripsi dengan judul “Efek Protektif *Thymoquinone* Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P selaku Rektor Universitas Lampung
2. Bapak Dr. dr. Muhartono, M.Kes., Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
3. Ibu dr. Susianti, M.Sc selaku Pembimbing Utama atas kesediannya untuk menyempatkan waktu memberikan bimbingan, saran dan kritik serta memberikan banyak ilmu selama proses penyelesaian skripsi ini.
4. Ibu dr. Ratna Dewi Puspita Sari, Sp.OG selaku Pembimbing Kedua atas kesediannya untuk menyempatkan waktu memberikan bimbingan, saran dan kritik selama proses skripsi ini.

5. Bapak Dr. dr. Asep Sukohar, M.Kes selaku Penguji Utama pada ujian skripsi untuk masukan, saran-saran dan ilmu yang diberikan.
6. Bapak dr. Rizki Hanriko, Sp.PA atas bantuannya membimbing dalam proses pembacaan preparat histopatologi.
7. Ibu dr. Agustyas Tjiptaningrum, Sp.PK selaku Pembimbing Akademik saya sejak semester awal hingga semester akhir.
8. Ibu terhebat yang sangat aku sayangi, terima kasih telah memberikan kasih sayang, nasehat, motivasi, selalu mendoakan anak-anaknya dan selalu memberikan yang terbaik. Semoga Allah swt selalu melindungi Ibu dalam setiap langkah.
9. Bapak terhebat yang sangat aku sayangi terima kasih selalu memberikan kasih sayang, dukungan, doa dan selalu memberikan semangat. Semoga Allah swt selalu melindungi Bapak dalam setiap langkah.
10. Kakak-kakakku Ena, Yayah, Ating, Uni, Okti yang telah memberikan doa, bantuan dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini, serta kakakku Yuliana yang telah sangat membantu proses pembuatan skripsi ini dan telah membimbingku selama menjadi mahasiswi.
11. Sepupuku Ayuk Tia dan Ridho atas nasehat dan bimbingannya selama ini.
12. Seluruh Staf Dosen FK Unila atas ilmu dan pengalaman berharga yang telah diberikan kepada penulis untuk menambah wawasan yang menjadi landasan untuk mencapai cita-cita.
13. Seluruh Staf TU, Administrasi dan Akademik FK Unila, serta pegawai yang turut membantu dalam proses penelitian ini.

14. Ibu Romi, Ibu Nuriah dan Mas Bayu yang telah membantu dalam penelitian dan memberikan nasehat-nasehat.
15. Sahabat-sahabatku Shesy Sya'haya, Nisa Arifah dan Lisa Ayu Pratiwi yang selalu ada dalam suka maupun duka, saling mengingatkan dan selalu memberikan semangat.
16. Sahabat-sahabat SMA: Okta, Susan, Ona dan Ugi yang telah mengajarku arti sahabat yang sesungguhnya, selalu memberi semangat dan mendukungku selama ini.
17. Victoria Hawarima teman seperjuangan dalam penelitian ini.
18. Teman-teman angkatan 2013 yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
Terimakasih atas kebersamaan dan kerja sama dalam mengemban ilmu di kampus tercinta ini.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Akan tetapi, sedikit harapan semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Amin

Bandar Lampung, Januari 2017

Penulis,

Rika Oktaria

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum	4
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Ginjal.....	6
2.1.1. Anatomi	6
2.1.2. Histologi	8
2.1.3. Fisiologi.....	14
2.1.4. Kelainan Ginjal	15
2.2. Tikus Putih Galur <i>Sprague Dawley</i>	17
2.2.1. Morfologi Tikus Putih	17
2.2.2. Biologi dan Perilaku Tikus Putih	18
2.2.3. Klasifikasi Tikus Putih	19
2.3. Rifampisi	19
2.3.1. Farmakodinamik.....	20
2.3.2. Farmakokinetik.....	20
2.3.3. Dosis Rifampisin	21
2.3.4. Pengaruh Terhadap Ginjal.....	21
2.4. <i>Thymoquinone</i>	24
2.5. Kerangka Penelitian	26
2.5.1. Kerangka Teori.....	26
2.5.2. Kerangka Konsep	29
2.6. Hipotesis Penelitian	29

III. METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian	31
3.2. Tempat dan Waktu	31
3.3. Populasi dan Sampel	31
3.3.1. Populasi Penelitian	31
3.3.2. Sampel Penelitian	32
3.3.3. Kelompok Perlakuan	32
3.3.4. Kriteria Inklusi	33
3.3.5. Kriteria Eksklusi	33
3.4. Alat dan Bahan Penelitian	34
3.4.1. Alat Penelitian	34
3.4.2. Bahan Penelitian	34
3.5. Prosedur Penelitian	35
3.5.1. <i>Ethical Clearance</i>	35
3.5.2. Pengadaan Hewan Coba	36
3.5.3. Adaptasi Hewan Coba	36
3.5.4. Pembagian Kelompok	36
3.5.5. Prosedur Pemberian Dosis <i>Thymoquinone</i>	36
3.5.6. Prosedur Pemberian Riafampisin	37
3.5.7. Prosedur Perlakuan	38
3.5.8. Prosedur Operasional Pembuatan Slide	38
3.6. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional	45
3.6.1. Identifikasi Variabel	45
3.6.2. Definisi Operasional	46
3.7. Pengolahan dan Analisis Data	46
3.7.1. Pengolahan Data	46
3.6.2. Analisis Data	47

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian	48
4.1.1. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus	48
4.1.2. Analisis Histopatologi Ginjal Tikus	53
4.2. Pembahasan	56

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan	61
5.2. Saran	61

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Definisi Operasional	46
Tabel 2. Rerata Skor Kerusakan Ginjal.....	54
Tabel 3. Hasil Analisis <i>Mann Whitney</i>	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Letak Ginjal	7
Gambar 2. Anatomi Ginjal	8
Gambar 3. Penampang Histologi Normal Ginjal	9
Gambar 4. Korpuskel Ginjal dan Tubulus Ginjal	10
Gambar 5. Histologi Ginjal Manusia	14
Gambar 6. Histopatologi Ginjal Tikus Kelompk Kontrol Patologis	17
Gambar 7. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Galur <i>Sprague Dawley</i>	19
Gambar 8. Mekanisme Terjadinya <i>Acute Tubular Necrosis</i>	22
Gambar 9. Kerangka Teori	28
Gambar 10. Kerangka Konsep	29
Gambar 11. Diagram Alur Penelitian	44
Gambar 12. Histopatologi Ginjal Tikus K1	49
Gambar 13. Histopatologi Ginjal Tikus K2	50
Gambar 14. Histopatologi Ginjal Tikus P1	51
Gambar 15. Histopatologi Ginjal Tikus P2	52
Gambar 16. Histopatologi Ginjal Tikus P3	53

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Ginjal merupakan organ vital yang berperan penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan tubuh. Ginjal mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan nonelektrolit, serta mengekskresikan kelebihannya sebagai urin. Ginjal juga mengeluarkan produk sisa metabolisme (misal urea, kreatinin, dan asam urat) dan zat kimia asing (Price, 2006).

Ginjal rentan terhadap efek toksik baik dari obat-obatan maupun bahan-bahan kimia karena ginjal menerima 25 persen dari curah jantung, sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah yang besar. Ginjal juga merupakan jalur ekskresi obligatorik untuk kebanyakan obat sehingga penggunaan obat yang tidak tepat dapat menyebabkan insufisiensi ginjal yang mengakibatkan penimbunan dan meningkatkan konsentrasi obat dalam cairan tubulus ginjal (Price, 2006).

Salah satu obat yang menyebabkan gangguan ginjal adalah antibiotik yang sebenarnya berguna bagi manusia. Obat-obat antibiotik dapat menginduksi kerusakan ginjal melalui berbagai cara antara lain berkurangnya natrium dan

air, perubahan pada aliran darah dan obstruksi terhadap ginjal (Chasani, 2007). Salah satu obat antibiotik yang sering digunakan dalam dunia kedokteran adalah rifampisin.

Rifampisin merupakan salah satu terapi lini pertama dari tuberkulosis (TB), terutama dalam kombinasi dengan isoniazid, etambutol dan pirazinamid. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2014 terdapat 9,6 juta penduduk dunia terinfeksi kuman TB (WHO, 2015), karena banyaknya kasus TB tersebut maka penggunaan rifampisin juga sangat tinggi. Salah satu efek samping rifampisin adalah nefrotoksisitas. Angka kejadian nefrotoksikitas akibat penggunaan rifampisin sebagai obat anti tuberkulosis (OAT) adalah berkisar antara 1,8% sampai 16% dari semua kasus gangguan ginjal akut (Chasani, 2007).

Toksisitas rifampisin terhadap ginjal telah dilaporkan secara sporadis dan histologi. Efek samping rifampisin terhadap ginjal yaitu berupa reaksi inflamasi pada nefron ginjal (nephritis interstitial) yang dapat dikaitkan dengan *acute tubulointerstitial nephritis* (ATIN). Selain itu efek toksik dari rifampisin dapat menyebabkan kematian sel-sel ginjal yang dikaitkan dengan tubular nekrosis, nekrosis papiler, dan nekrosis kortikal akut (Min *et al.*, 2013).

Akhir - akhir ini, *trend* dalam menggunakan tanaman obat tradisional (herbal) sebagai pilihan pengobatan termasuk untuk pengobatan penyakit ginjal kembali mengemuka. Obat tradisional terbukti relatif aman asalkan cara penggunaannya benar dengan dosis yang tepat dan dengan indikasi yang tepat pula. Obat tradisional juga diketahui jarang sekali menimbulkan efek samping (Dewoto, 2007).

Salah satu tanaman obat tradisional yang akhir - akhir ini mulai mendapatkan perhatian dengan manfaatnya yang sangat banyak adalah jintan hitam (*Nigella sativa*) atau yang dikenal dengan nama *habbatussauda*. Penggunaan jintan hitam sebagai obat atau yang berkhasiat obat adalah pada bijinya. Biji jintan hitam telah digunakan secara tradisional selama berabad-abad di Timur Tengah, Afrika Utara dan Asia Selatan sebagai obat alami untuk menyembuhkan berbagai penyakit (Vahdati, 2005).

Di dalam biji jintan hitam, *thymoquinone* diidentifikasi sebagai komponen utama (lebih dari 50%). *Thymoquinone* di Indonesia masih merupakan zat yang belum banyak diketahui orang. *Thymoquinone* merupakan suatu zat aktif yang memiliki fungsi proteksi melawan nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas. Selain itu juga mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba, dan antineoplastik (Ali *et al.*, 2012).

Thymoquinone yang memiliki fungsi proteksi melawan nefrotoksisitas memiliki peran sebagai antiinflamasi, antiapoptosis dan antioksidan yang dapat menekan produksi radikal bebas, serta berperan dalam melindungi sel - sel tubuh dari stress oksidasi dan peroksidasi lipid yang berlebihan (Kanter *et al.*, 2005). Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Zaher *et al.*, 2008) yang melakukan observasi efek biologis dari biji jintan hitam mengemukakan bahwa biji jintan hitam mempunyai efek biologis sebagai antioksidan yang meliputi penghambatan aktifitas DPPH, menghambat radikal *nitric oxide*, dan menghambat aktifitas lipid peroksidasi. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin membuktikan apakah *Thymoquinone* dapat

mempengaruhi gambaran histopatologis ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diakibatkan oleh pemberian rifampisin.

1.2.Perumusan Masalah

1. Apakah pemberian *thymoquinone* dapat memberikan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin?
2. Apakah peningkatan dosis *thymoquinone* dapat memberikan peningkatan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

- a. Mengetahui efek protektif dari *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui efek protektif *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.
- b. Mengetahui hubungan peningkatan dosis *tymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

a. Bagi Peneliti

Penelitian ini sebagai wujud pengaplikasian disiplin ilmu yang telah dipelajari sehingga dapat mengembangkan wawasan keilmuan peneliti.

b. Bagi Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek protektif *thymoquinone* terhadap ginjal.

c. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek protektif *thymoquinone* terhadap ginjal. Penelitian ini juga dapat mendukung upaya pemeliharaan tanaman yang mengandung *thymoquinone* sebagai salah satu tanaman berkhasiat obat (apotek hidup).

d. Bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Meningkatkan iklim penelitian dibidang *agromedicine* sehingga dapat menunjang pencapaian visi FK Unila 2025 sebagai Fakultas Kedokteran Sepuluh Terbaik di Indonesia pada Tahun 2025 dengan Kekhususan *agromedicine*.

e. Bagi Peneliti Lain

Dapat dijadikan bahan acuan untuk dilakukannya penelitian yang serupa yang berkaitan dengan efek *thymoquinone*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

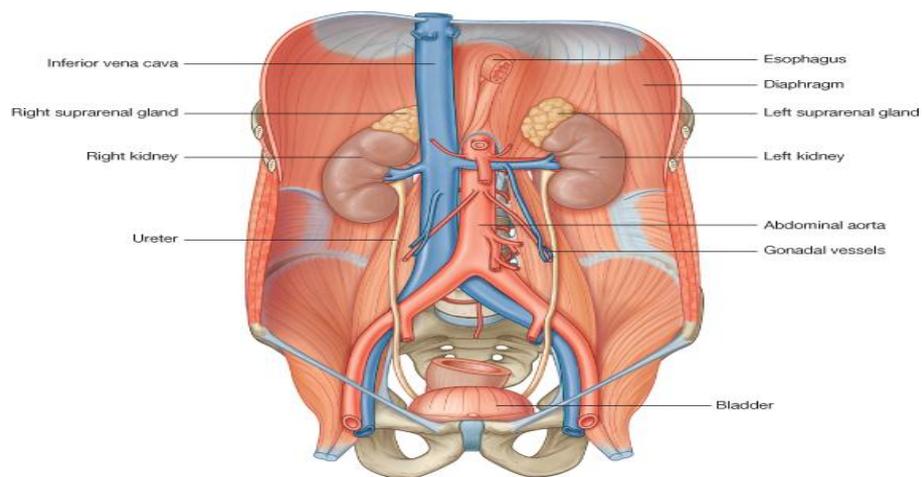
2.1. Ginjal

2.1.1. Anatomi

Ginjal merupakan organ retroperitoneal yang terletak di bagian belakang abdomen atas, di belakang peritoneum, di depan dua iga terakhir dan tiga otot besar *Transversus abdominis*, *Kuadratus lumborum* dan *Psoas mayor*. Ginjal dekstra terletak sedikit lebih rendah daripada ginjal sinistra karena besarnya lobus hepatis dekstra. Kutub atas ginjal dextra terletak setinggi sela iga kedua belas. Sedangkan kutub ginjal sinistra terletak setinggi sela iga kesebelas. Ginjal dipertahankan dalam posisi tersebut oleh bantalan lemak yang tebal. Terdapat kelenjar adrenal yang terletak diatas kutub masing-masing ginjal (Price, 2006).

Setiap ginjal pada orang dewasa memiliki panjang sekitar 12 cm sampai 13 cm (4,7 hingga 5,1 inci), lebarnya 6 cm (2,4 inci), tebalnya 2,5 cm (1 inci) dan beratnya sekitar 150 gram. Ukurannya tidak berbeda menurut bentuk dan ukuran tubuh. Perbedaan panjang dari kutub ke kutub dari kedua ginjal (dibandingkan dengan pasangannya) yang lebih dari 1,5 cm (0,6 inci) atau perubahan bentuk merupakan tanda yang penting

karena sebagian besar manifestasi penyakit ginjal adalah perubahan struktur (Price, 2006). Pada sisi medial setiap ginjal terdapat hilum yang merupakan tempat masuknya arteri dan vena renalis, suplai saraf, cairan limfatik, dan ureter yang membawa urin akhir dari ginjal ke kandung kemih (Marieb, 2010).

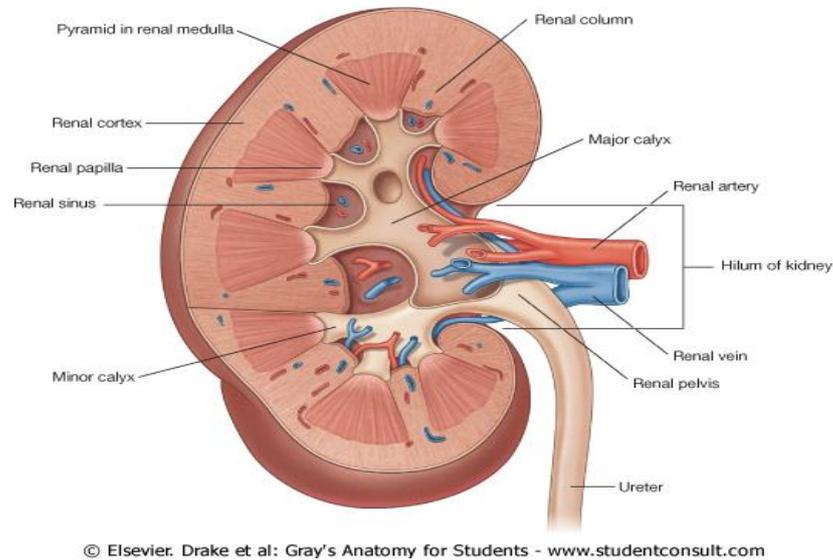


© Elsevier. Drake et al: Gray's Anatomy for Students - www.studentconsult.com

Gambar 1. Letak ginjal (Drake *et al.*, 2010)

Aliran darah pada ginjal berasal dari arteri renalis yang merupakan cabang langsung dari aorta abdominalis, sedangkan darah vena dialirkan melalui vena renalis yang bermuara ke vena kava inferior. Sistem arteri ginjal adalah *end arteries* yaitu arteri yang tidak mempunyai anastomosis dengan cabang–cabang dari arteri lain, sehingga jika terdapat kerusakan salah satu cabang arteri ini, berakibat timbulnya iskemia/nekrosis pada daerah yang dilayaninya (Purnomo, 2012). Aliran darah di dalam kedua ginjal seorang dewasa berjumlah 1,2–1,3L darah permenit. Hal ini berarti bahwa seluruh darah yang

beredar dalam tubuh mengalir melalui ginjal setiap 4–5 menit (Junquiera dan Carneiro, 2007).

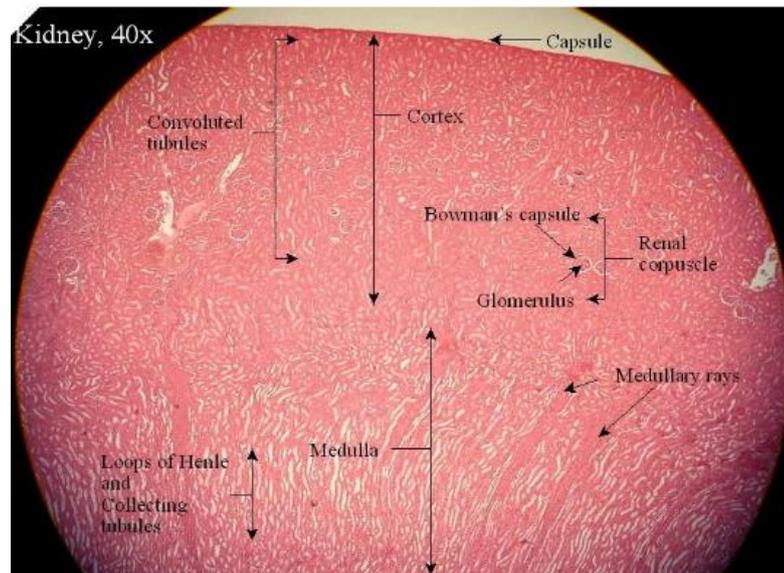


Gambar 2. Anatomi ginjal (Drake *et al.*, 2010)

2.1.2. Histologi

Ginjal terbagi menjadi dua daerah utama yaitu korteks dan medula. Korteks berada pada bagian luar sedangkan medula berada di dalamnya (Guyton dan Hall, 2007). Pada manusia, medula ginjal terdiri atas 8-15 struktur berbentuk kerucut yang disebut piramida ginjal, yang dipisahkan oleh penjururan korteks yang disebut *columna renalis*. Setiap piramida medula dan jaringan korteks di dasarnya dan di sepanjang sisinya membentuk suatu lobus ginjal. Setiap ginjal tersusun atas ribuan unit fungsional terkecil yang disebut sebagai nefron. Tiap nefron berawal dari korteks terdiri dari korpuskel ginjal kemudian memanjang menjadi tubulus kontortus proksimal kemudian lengkung Henle yang memanjang menuju ke medula dan kembali memanjang ke

korteks. Setelah lengkung Henle terdapat tubulus kontortus distal dan kemudian tubulus kolektivus. Hampir seluruh bagian dari nefron berada dalam korteks kecuali lengkung Henle pars medula (Mescher, 2012).



Gambar 3. Penampang histologi normal ginjal (Eroschenko, 2010)

2.1.2.1. Korpuskel Ginjal

Pada bagian awal setiap nefron terdapat sebuah korpuskel ginjal yang mengandung seberkas kapiler, glomerulus, yang dikelilingi oleh simpai epitel ber dinding ganda yang disebut simpai (Bowman) glomerular. Lapisan internal (lapisan viseral) simpai menyelubungi kapiler glomerulus. Lapisan parietal eksternal membentuk permukaan luar simpai tersebut. Setiap korpuskel ginjal memiliki kutub vaskular, tempat masuknya arteriol aferen dan keluarnya arteriol eferen, serta memiliki katub tubular atau

perkemihan, tempat tubulus kontortus proksimal berasal (Mescher, 2012).

Lapisan parietal simpai glomerular terdiri atas selapis epitel skuamosa yang ditunjang lamina basal dan selapis tipis serat rentikular di luar. Di kutub tubular, epitelnya berubah menjadi epitel selapis kuboid yang menjadi ciri tubulus proksimal (Mescher, 2012).



Gambar 4. Korpuskel ginjal dan tubulus ginjal (Eroschenko, 2010)

2.1.2.2. Tubulus Kontortus Proksimal

Di kutub tubular korpuskel ginjal, epitel skuamosa pada lapisan parietal simpai Bowman berhubungan langsung dengan epitel kuboid tubulus kontortus proksimal. Sel tubulus proksimal mereabsorpsi 60-65% air yang disaring dalam korpuskel ginjal, beserta hampir semua nutrien, ion, vitamin dan protein plasma

kecil. Air dan zat terlarutnya diangkut secara langsung melalui dinding tubulus dan segera diambil oleh kapiler peritubular. Sel-sel tubulus proksimal memiliki sitoplasma asidofilik yang disebabkan oleh adanya sejumlah besar mitokondria. Apeks sel memiliki banyak mikrovili panjang yang membentuk suatu *brush border* untuk reabsorpsi. Setiap potongan melintang tubulus proksimal biasanya hanya mengandung tiga sampai lima inti bulat. Pada sediaan histologis rutin, brush border dapat tidak teratur dan lumennya tampak terisi serabut. Kapiler dan komponen mikrovaskular lain banyak dijumpai pada jaringan ikat sekitar (Mescher, 2012).

2.1.2.3. Gelung Nefron (Ansa Henle)

Tubulus kontortus proksimal berlanjut sebagai tubulus lurus yang lebih pendek dan memasuki medula serta menjadi gelung nefron. Gelung ini merupakan struktur berbentuk U dengan segmen desendens dan segmen ascendens, keduanya terdiri atas selapis epitel kuboid di dekat korteks, tetapi berupa epitel skuamosa di dalam medula. Di medula luar, bagian lurus tubulus proksimal akan menyempit dan berlanjut sebagai segmen tipis desendens tipis gelung nefron. Lumen pada segmen nefron ini lebar dan dindingnya terdiri atas sel epitel skuamosa dengan inti yang hanya sedikit menonjol ke dalam lumen (Mescher, 2012).

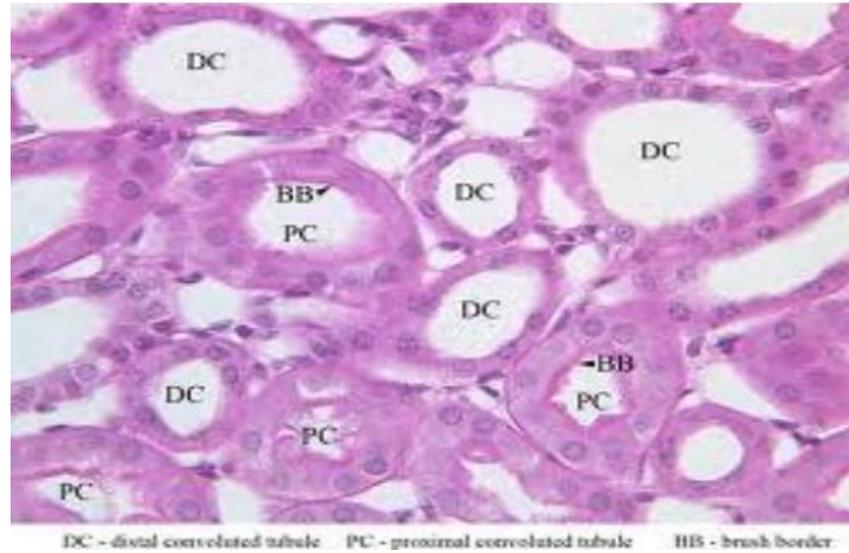
Kira-kira sepertujuh dari semua nefron terletak dekat perbatasan korteks-medula sehingga disebut nefron jukstamedular, yang terutama penting pada mekanisme yang memungkinkan ginjal menghasilkan urine hipertonik yang pekat. Nefron jukstamedular biasanya memiliki gelung yang sangat panjang dan masuk jauh ke dalam medula dengan segmen lurus tebal di proksimal, segmen desendens dan ascendens tipis yang panjang, dan segmen ascendens tebal yang panjang. Sel kuboid segmen ascendens tebal gelung tersebut aktif mengangkut natrium klorida keluar dari tubulus dengan melawan gradien konsentrasi ke dalam jaringan ikat interstisial yang kaya-hialuronat, yang membuat kompartemen tersebut menjadi hiperosmotik. Sel skuamosa segmen desendens tipis gelung tersebut bersifat permeabel bebas terhadap air tetapi tidak terhadap garam, sementara segmen ascendens tipis gelung bersifat permeabel terhadap garam tetapi impermiabel terhadap air. Aliran filtrat dengan arah berlawanan dalam dua segmen paralel gelung nefron menciptakan suatu gradien osmolaritas pada interstisium piramida medula dan aliran darah balik di gelung vasa recta membantu mempertahankan gradien tersebut. Osmolaritas interstitial yang tinggi menarik air secara pasif dari duktus kolligens di piramida medula yang memekatkan urin. Permeabilitas air dalam duktus tersebut ditingkatkan oleh hormon antidiuretik (ADH) (Mescher, 2012).

2.1.2.4. Tubulus Kontortus Distal

Segmen tebal asendens gelung nefron menjadi lurus saat memasuki korteks, dan kemudian berkelok-kelok sebagai tubulus kontortus distal. Selapis sel kuboid tubulus tersebut berbeda dari sel kuboid tubulus kontortus proksimal karena lebih kecil dan tidak memiliki brush border. Sel-sel tubulus kontortus distal memiliki banyak invaginasi membran basal dan mitokondria tubulus proksimal, yang menunjukkan fungsi transpor ionnya. Bagian awal tubulus distal yang lurus berkontak dengan kutub vaskular di korpuskel ginjal nefron induknya dan membentuk struktur khusus, apparatus jukstaglomerulus. Sel struktur tersebut menciptakan suatu mekanisme umpan balik yang memungkinkan autoregulasi aliran darah ginjal dan menjaga laju filtrasi dengan relatif konstan (Mescher, 2012).

2.1.2.5. Tubulus Duktus Kolingentes

Tubulus kolingentes yang lebih kecil dilapisi oleh epitel kuboid. Di sepanjang perjalanannya, tubulus dan duktus kolingentes terdiri atas sel-sel yang tampak pucat dengan pulasan biasa. Epitel duktus kolingentes responsif terhadap vasopresin arginin atau hormon antidiuretik, yang disekresi hipofisis posterior. Jika masukan air terbatas, hormon antidiuretik disekresikan dan epitel duktus kolingentes mudah dilalui air yang diabsorpsi dari filtrat glomerulus .



Gambar 5. Histologi ginjal normal manusia, Ket: DC: *Distal Convoluted Tubule*; PC: *Proximal Convoluted Tubule*; BB: *Brush Border* (Slomianka, 2009).

2.1.3. Fisiologi

Ginjal merupakan organ yang berperan dalam mempertahankan homeostasis tubuh dengan cara membantu mengatur volume, komposisi elektrolit, pH lingkungan internal dan mengeluarkan produk sisa metabolik. Ginjal bekerja sama dengan masukan hormonal dan saraf untuk mengontrol fungsinya (Sherwood, 2011).

(Price, 2006) menjelaskan secara singkat bahwa fungsi utama ginjal terbagi dua yaitu fungsi ekskresi dan non ekskresi. Fungsi ekskresi ginjal adalah mempertahankan osmolalitas plasma sekitar 285 mili Osmol dengan mengatur eksresi air, mempertahankan volume *ekstracellular fluid* dan tekanan darah dengan mengatur ekskresi natrium, mempertahankan konsentrasi plasma masing-masing elektrolit individu dalam rentang normal, mempertahankan derajat keasaman atau

pH plasma sekitar 7,4 dengan mengeluarkan kelebihan hidrogen dan membentuk kembali karbonat, mengeksresikan produk akhir nitrogen dari metabolisme protein terutama urea, asam urat dan kreatinin, bekerja sebagai jalur ekskretori untuk sebagian besar obat. Sedangkan fungsi non eksresi ginjal adalah menyintesis dan mengaktifkan hormon renin, eritropoietin, 1,25-dihidroksivitamin D₃, prostaglandin, degradasi hormon polipeptida, insulin, glukagon, parathormon, prolaktin, hormon pertumbuhan, ADH, gastrin dan polipeptida intestinal vasoaktif.

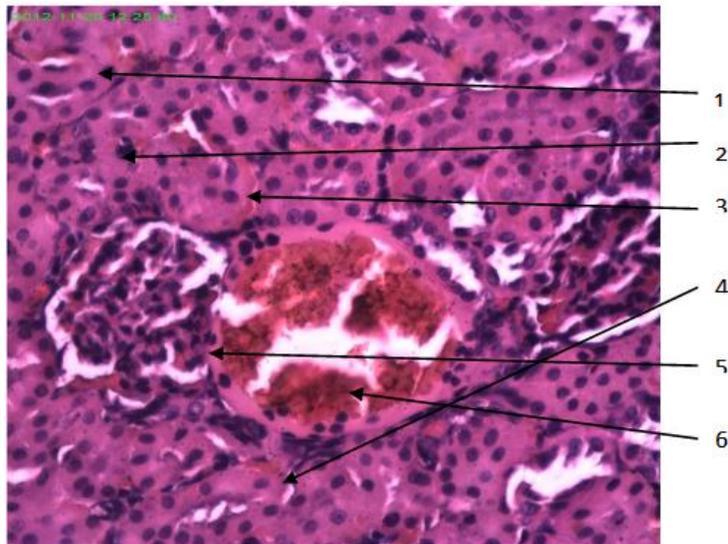
Ginjal melakukan tiga proses dalam menjalankan fungsinya yaitu dengan filtrasi glomerulus, reabsorpsi tubulus dan sekresi tubulus. Filtrasi glomerulus merupakan langkah pertama dalam pembentukan urin dengan cara pemindahan nondiskriminatif plasma bebas protein dari darah ke dalam tubulus, kemudian dilanjutkan dengan proses reabsorpsi tubulus yaitu pemindahan selektif konstituen-konstituen tertentu dari dalam lumen tubulus ke kapiler peritubulus ke sistem vena dan kemudian ke jantung untuk diresirkulasi. Setelah reabsorpsi, proses selanjutnya adalah sekresi tubulus dengan perpindahan sangat spesifik bahan-bahan dari darah kapiler peritubulus ke dalam cairan tubulus (Price, 2006).

2.1.4. Kelainan Ginjal

Penyakit pada ginjal sama kompleksnya dengan strukturnya, tetapi penelitian tentang penyakit tersebut dipermudah dengan membagi

penyakit menjadi kelompok yang mengenai empat komponen morfologik dasar yaitu glomerulus, tubulus, interstisium, dan pembuluh darah. Pendekatan tradisional ini sangat bermanfaat karena manifestasi awal penyakit yang mengenai setiap komponen cenderung khas. Selain itu, sebagian komponen tampaknya lebih rentan terhadap bentuk tertentu cedera ginjal, sebagai contoh penyakit glomerulus sering bersifat imunologis, sedangkan penyakit tubulus dan interstisium lebih besar kemungkinannya disebabkan oleh zat toksik, obat-obatan dan agen infeksi (Robbins *et al.*, 2007).

Dalam era antibiotik dan analgesik ini, obat muncul sebagai salah satu penyebab penting cedera ginjal. Antibiotik sintetik (rifampisin) merupakan salah satu obat yang sering menyebabkan cedera ginjal berupa ATIN. Penyakit ditandai dengan demam, eosinofilia, ruam, dan kelainan ginjal. Kelainan ginjal mencakup hematuria, proteinuria minimal atau tidak ada, dan leukosituria (termasuk eosinofil). Peningkatan kadar kreatinin serum atau gagal ginjal akut dengan oliguria terjadi pada sekitar 50% kasus, terutama pada pasien lanjut usia (Robbins *et al.*, 2007).



Gambar 6. Histopatologi ginjal tikus kelompok kontrol patologis; Pewarnaan H-E; Ket: 1. tubulus proksimal; 2. lumen tubulus; 3. epitel tubulus; 4. tubulus distal; 5. sel radang; 6. fokus perdarahan (Astuti, 2012).

Gambar yang diambil setelah 10 hari ginjal diinduksi oleh rifampisin, dari gambar ini terlihat pembengkakan sel tubulus proksimal yang bermakna, penyempitan lumen tubulus, peningkatan sel radang pada lumen tubulus serta ditemukan adanya beberapa fokus perdarahan pada lumen tubulus proksimal (Astuti, 2012).

2.2. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

2.2.1. Morfologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus merupakan hewan yang banyak dikembangbiakkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba. Salah satu tikus yang sering digunakan sebagai hewan uji coba adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* (Adiyati, 2011). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) memiliki ciri-ciri bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus ini tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata

tikus putih berwarna merah. Ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang. Bobot badan tikus jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325 gram (Sirois, 2005).

2.2.2. Biologi dan Perilaku Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Selain itu penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun. Keunggulan tikus putih dibandingkan tikus liar antara lain lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Kelebihan lainnya sebagai hewan laboratorium adalah sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan. Tikus putih sebagai hewan percobaan relatif resisten terhadap infeksi dan sangat cerdas dan tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit. Secara umum berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar (Sirois, 2005).

2.2.3. Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut (Setiorini, 2012)

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub-Famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur/Strain	: <i>Sprague Dawley</i>



Gambar 7. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague Dawley* (Akbar, 2010).

2.3. Rifampisin

Rifampisin adalah obat yang sangat efektif untuk pengobatan *tuberculosis* dan sering digunakan bersama isoniazid untuk terapi *tuberculosis* jangka pendek. Rifampisin merupakan derivat semisintetik rifampisin B yaitu salah satu anggota kelompok antibiotik makrosiklik yang disebut rifampisin. Obat

ini merupakan obat yang larut dalam pelarut organik dan air yang pH nya asam. Rifampisin menghambat pertumbuhan berbagai kuman Gram-positif dan Gram-negatif (Gunawan *et al.*, 2007).

2.3.1. Farmakodinamik

Rifampisin bekerja dengan menghambat transkripsi dengan cara berinteraksi dengan subunit beta RNA polimerase bakterial tergantung DNA, sehingga menghambat sintesis RNA dengan menekan langkah permulaan. Rifampisin berikatan kuat dengan RNA polimerase yang bergantung pada DNA serta menghambat sintesis RNA bakteri dan klamidia. Polimerase manusia tidak dipengaruhi (Katzung, 2008).

2.3.2. Farmakokinetik

Pemberian rifampisin per oral menghasilkan kadar puncak dalam plasma sekitar 2-4 jam. Setelah diserap dari saluran cerna, obat ini cepat diekskresi melalui empedu dan kemudian mengalami sirkulasi enterohepatik. Masa paruh eliminasi rifampisin bervariasi antara 1,5 sampai 5 jam dan akan memanjang bila ada kelainan fungsi hepar. Pada pemberian berulang waktu paruh ini memendek sampai kira-kira 40% dalam waktu 14 hari. Rifampisin di distribusi ke seluruh tubuh. Kadar efektif dicapai dalam berbagai organ dan cairan tubuh, termasuk cairan otak. Luasnya distribusi rifampisin tercermin dengan warna merah jingga pada urin, tinja, air liur, sputum, air mata dan keringat (Gunawan *et al.*, 2007).

2.3.3. Dosis Rifampisin

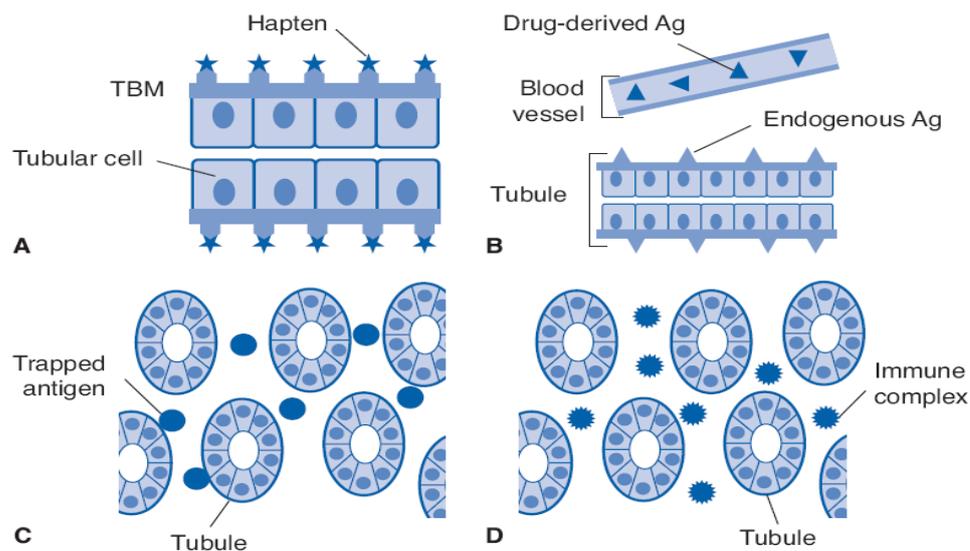
Dosis pada penderita *tuberculosis* adalah 450-600 mg/hari diberikan secara oral sekaligus tiap pagi sebelum makan, karena kecepatan dan kadar resorpsinya dihambat oleh isi lambung. Selalu dikombinasi dengan INH 300 mg (Tjay & Rahardja, 2007). Dosis rifampisin diatas 600 mg/hari pada manusia dapat menyebabkan efek samping terhadap ginjal berupa insufisiensi ginjal dan gagal ginjal akut (Mappa, 2013).

2.3.4. Pengaruh terhadap Ginjal

Penggunaan rifampisin diketahui dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Angka kejadian nefrotoksisitas akibat rifampisin sangatlah bervariasi dari 1,8% hingga 16% dari semua angka kejadian gangguan ginjal akut. Dalam penelitian (Min *et al.*, 2013) dilaporkan bahwa konsumsi obat rifampisin selama 2 bulan dapat menimbulkan nefritis tubulointerstisial akut. Selain itu penelitian (Meulen *et al.*, 2009) juga melaporkan bahwa konsumsi obat rifampisin dapat menimbulkan *acute interstitial nephritis* (AIN) dan *acute tubular necrosis* (ATN). Rifampisin menimbulkan efek nefrotoksik yang ditandai dengan adanya perubahan struktur ginjal dan penurunan fungsi ginjal.

Rifampisin dapat menyebabkan rusaknya sel-sel ginjal. Proses destruksi sel ginjal dapat dikaitkan dengan teori imunitas. Rifampisin dianggap sebagai antigen didalam tubuh. Rifampisin mengikat komponen normal *tubulus basal membran* (TBM) atau interstitium. Ketika rifampisin berikatan dengan molekul protein maka timbul respon imun

dengan membentuk antibodi. Antibodi tersebut akan berikatan dengan rifampisin, sehingga terbentuk kompleks imun. Kompleks imun inilah yang nantinya berperan dalam proses destruksi sel-sel ginjal (Beebe *et al.*, 2015).



Gambar 8. Mekanisme terjadinya *acute tubular necrosis* akibat penggunaan obat rifampisin (Lerma, 2008).

Teori imunitas diatas sesuai dengan hasil penelitian (Meulen *et al.*, 2009) bahwa pada kasus ATN telah ditemukan *rifampicin-dependent antibodies* dan Imunoglobulin A yang terdeposit pada lumen tubulus ginjal serta Imunoglobulin M yang terdeposit pada glomerulus ginjal.

Selain itu patogenesis kerusakan ginjal dikaitkan dengan reaksi inflamasi. Pada studi sebelumnya dilaporkan bahwa nefrotoksik diduga akibat dari sebuah respon inflamasi terhadap cedera organ. Hal ini dibuktikan pada penelitian (Mahmoud, 2015) tingginya kadar serum

tumor necrosis factor alpha (TNF- α) pada tikus yang diinduksi obat rifampisin. TNF- α merupakan suatu mediator pro inflamasi penanda adanya reaksi inflamasi. Dari pemeriksaan histologi ginjal juga didapatkan infiltrasi sel-sel inflamasi.

Kerusakan ginjal juga dikaitkan dengan stres oksidatif. Dimana pemberian rifampisin dapat menginduksi radikal bebas dan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan peningkatan stress oksidatif (Mahmoud, 2015). Ginjal terdiri dari lipid yang banyak mengandung asam lemak hal ini yang membuat ginjal mudah rusak oleh ROS. ROS memiliki kemampuan untuk menginduksi perioksidasi lipid, menghancurkan protein, mencederai sel, fragmentasi DNA dan mampu mengubah sistem imun alami didalam tubuh.

Pada penelitian sebelumnya pemberian rifampisin mengakibatkan tingginya perioksidasi lipid marker *malondialdehid* (MDA), hal ini mencerminkan adanya kerusakan ginjal yang serius. Pemberian rifampisin juga dapat mengakibatkan menurunnya antioksidan alami didalam tubuh. Sehingga terjadi ketidakseimbangan antara anti oksidan dan oksidan didalam tubuh yang akhirnya berperan sebagai patogenesis kerusakan ginjal. Hal ini dibuktikan pada penelitian (Mahmoud, 2015) terdapat hubungan yang signifikan antara tikus yang diinduksi rifampisin terhadap rendahnya kadar *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPX) dan *depletes reduced glutathione* (GSH) yang merupakan antioksidan alami didalam tubuh.

Efek nefrotoksisitas rifampisin pada ginjal diawali dengan terjadinya disfungsi glomerulus dan tubulus ginjal berupa atrofi, fibrosis pada glomerulus, atrofi degenerasi hidropik, degenerasi lemak, nekrosis dan kalsifikasi tubulus (Singh *et al.*, 2003). Pada penelitian (Chiba *et al.*, 2013) penderita ATIN akibat rifampisin didapatkan sel MN, infiltrasi eosinofil, netrofil, fibrosis interstisial, atrofi tubulus ginjal dan lesi glomerulus pada hasil biopsi ginjal.

Kerusakan pada glomerulus dan tubulus ginjal dapat menyebabkan penurunan fungsi ginjal. Kerusakan glomerulus ginjal mengakibatkan protein dan sel darah tidak terfiltrasi dan lolos bersama urin. Sedangkan cedera pada tubulus ginjal dapat menimbulkan malabsorpsi bikarbonat, fosfat, potasium, glukosa dan asam amino (Beebe *et al.*, 2015).

Hubungan penggunaan rifampisin dengan gangguan fungsi ginjal dapat dilihat dari hasil penelitian (Meulen *et al.*, 2009) bahwa pada kasus ATIN akibat rifampisin didapatkan hasil urinalisis: hematuri (+), protein (++) , fosfat, glukosa, asam urat, dan potasium yang tinggi. Dan dari penelitian (Chiba, 2013) didapatkan kadar kreatinin yang tinggi yaitu 3,87 mg/dl.

2.4. *Thymoquinone*

2.4.1. Manfaat *Thymoquinone*

Thymoquinone merupakan suatu zat aktif yang terkandung di dalam biji tumbuhan jintan hitam. *Thymoquinone* diidentifikasi sebagai komponen utama (lebih dari 50%) pada biji jintan hitam (College,

2011). Baru-baru ini, studi klinis dan eksperimental telah menunjukkan banyak efek terapi *thymoquinone* termasuk *immunomodulative*, anti-inflamasi, anti-tumor, gastroprotektif, kardioprotektif, hepatoprotektif, renoprotektif dan antimikroba (Mahmoud *et al.*, 2014).

Thymoquinone diketahui memiliki efek nefroprotektif. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan pada kelompok tikus yang diberikan 10 mg/kg *thymoquinone* selama 10 hari dan diinduksi 20mg/kg metrotrexat dosis tunggal didapat bahwa pada akhir hari ke-3 percobaan menunjukkan peningkatan fungsi ginjal dan perbaikan gambaran histologi ginjal dibandingkan dengan yang diberikan metrotrexat saja (El-sheikh *et al.*, 2015).

Perbaikan fungsi ginjal ini dapat dilihat dari penurunan *creatinine* dan *blood urea nitrogen* (BUN), sedangkan dari gambaran histopatologinya dapat dilihat perbaikan ginjal berupa dilatasi ringan pada lumen tubulus ginjal dibandingkan dengan pemberian metrotrexat saja yang memperlihatkan banyaknya lumen yang dilatasi, atrofi glomerulus dan pelebaran *capsular space*. Mekanisme terjadinya perbaikan tersebut diketahui melibatkan penurunan tanda-tanda inflamasi dengan menurunkan level *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α), *nuclear factor kappa B* (NF-kB) dan *cyclooxygenase 2* (COX-2). Selain itu, *thymoquinone* juga menurunkan tingkat *nitrosative stress* dikedua ginjal yang ditunjukkan oleh penurunan *nitric oxide* di tingkat jaringan dibandingkan dengan yang diberikan metrotrexan saja. Di sini,

menunjukkan bahwa *thymoquinone* menginduksi penurunan tingkat *nitric oxied* karena ekspresi *downregulation nitrosative stress* di ginjal (El-sheikh *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan (Mahmoud, 2014) *thymoquinone* juga memiliki efek antiapoptosis yang dilihat dari penurunan ekspresi penanda apoptosis yaitu kaspase 3 pada tikus yang diberikan *thymoquinone* 20mg/kg dibandingkan dengan tikus yang diinduksi oleh gentamisin saja. Menariknya, saat ini *thymoquinone* sedang diselidiki sebagai agen antikanker baru yang melalui induksi ekspresi caspase 3 di sejumlah jenis keganasan in vitro dan in vivo (El-sheikh *et al.*, 2015).

Pada penelitian (Mabrouk dan Cheikh, 2016) pemberian *thymoquinone* 5mg/kg diketahui dapat menginduksi peningkatan kerja aktifitas enzim antioksidan. Enzim-enzim antioksidan tersebut diantaranya adalah *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPX), *catalase* (CAT), *glutathione reductase* (GR), *glutathione s-transferase* (GST) dan *depletes reduced glutathione* (GSH).

2.5. Kerangka Penelitian

2.5.1. Kerangka Teori

Penggunaan rifampisin diketahui dapat menyebabkan gangguan pada ginjal dengan cara mengikat komponen normal membran basal tubulus (TBM) dan bertindak sebagai haptan. Rifampisin meniru antigen yang biasanya hadir dalam TBM atau interstitium, rifampisin yang meniru

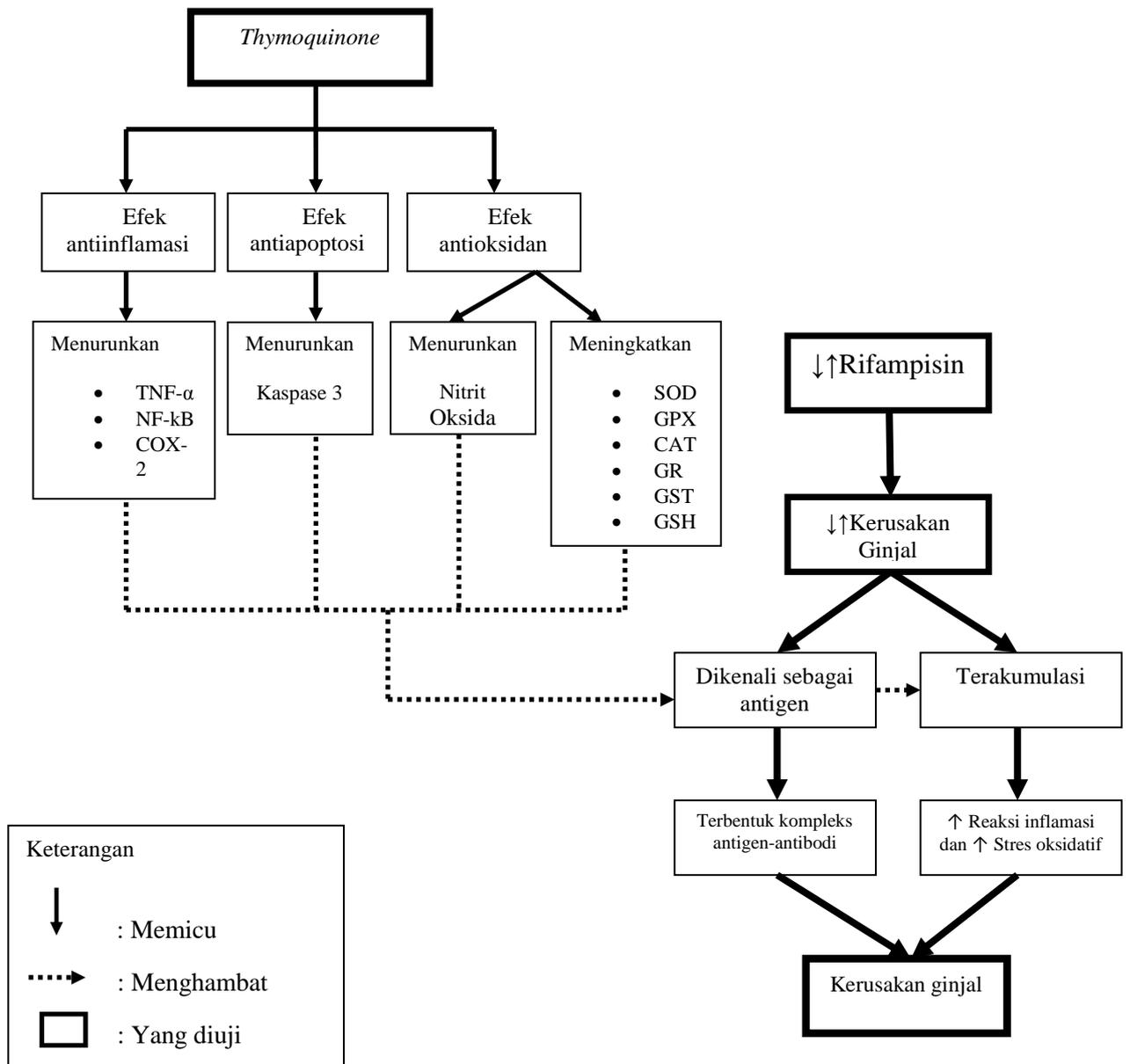
antigen tersebut akan memicu pengeluaran antibodi sehingga terbentuklah kompleks imun dan memicu respon imun (Beebe *et al.*, 2015).

Selain itu, patogenesis kerusakan ginjal juga dikaitkan dengan reaksi inflamasi. Hal ini dibuktikan pada penelitian (Mahmoud, 2015) tingginya kadar serum TNF- α sebagai mediator pro inflamasi penanda adanya reaksi inflamasi dan dari pemeriksaan histologi ginjal juga didapatkan infiltrasi sel-sel inflamasi. Pada penelitian sebelumnya juga diketahui bahwa rifampisin menimbulkan radikal bebas sehingga terjadi peningkatan stress oksidatif. Ketiga mekanisme tersebut menyebabkan kerusakan pada ginjal (Mahmoud, 2015).

Kerusakan pada ginjal dapat dicegah dengan efek antiinflamasi, antiapoptosis dan efek antioksidan yang berasal dari *thymoquinone*. *Thymoquinone* mencegah terjadinya inflamasi dengan menurunkan level mediator inflamasi yaitu TNF- α , NF-kB, dan COX-2, sedangkan efek antiapoptosis dari *thymoquinone* berupa penurunan kaspase 3 yang merupakan ekspresi penanda apoptosis. Penurunan mediator inflamasi dan kaspase 3 tersebut dapat mencegah terjadinya kerusakan ginjal (El-sheikh *et al.*, 2015).

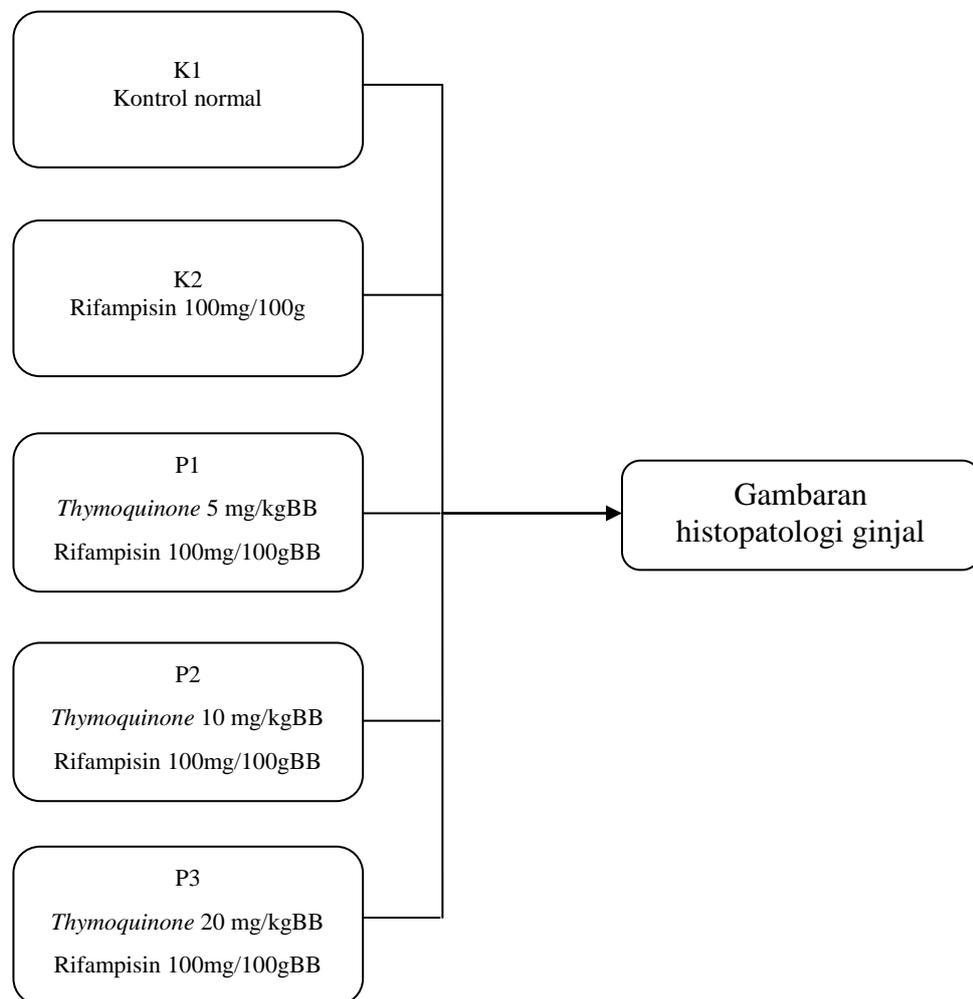
Selain itu, *thymoquinone* mempunyai efek antioksidan dengan cara menurunkan nitrit oksida dan menginduksi peningkatan kerja aktifitas enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPX), *catalase* (CAT), *glutathione reductase* (GR),

glutathione S-transferase (GST) dan *depletes reduced glutathione* (GSH) (Mabrouk dan Cheikh, 2016). Efek antiinflamasi dan efek antioksidan tersebut dapat menghambat terjadinya kerusakan ginjal yang disebabkan oleh rifampisin.



Gambar 9. Kerangka teori pengaruh *thymoquinone* terhadap kerusakan ginjal

2.5.2. Kerangka Konsep



Gambar 10. Kerangka konsep penelitian pengaruh *thymoquinone* terhadap kerusakan ginjal tikus.

2.6. Hipotesis Penelitian

- a. Terdapat efek protektif dari *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

- b. Terdapat peningkatan efek protektif dari peningkatan dosis *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *true experiment* dengan pola *post test–only control group design*. Menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10–16 minggu yang dipilih secara random yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan pengulangan sebanyak 5 kali, digunakan sebagai subjek penelitian.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Perlakuan hewan coba dilakukan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung sedangkan pembuatan preparat dan pengamatannya dilakukan di Balai Veteriner Bandar Lampung. Penelitian dilaksanakan selama 4 bulan dari bulan September-Desember 2016.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10–16 minggu yang diperoleh dari laboratorium Balai Penelitian Veteriner (BALVET) Palembang.

3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian dipilih secara acak berjumlah 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok. Banyaknya jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer.

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

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyak kelompok

Besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok:

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 = 5$$

Jadi sampel yang digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor.

Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi kedalam 5 kelompok.

3.3.3. Kelompok Perlakuan

Tikus sebanyak 25 ekor, dikelompokkan dalam 5 kelompok. Kelompok kontrol 1 (K1) sebagai kontrol normal, tidak diinduksi rifampisin dan tidak diberikan *thymoquinone*. Kelompok kontrol2 (K2) sebagai kontrol patologis yang diinduksi rifampisin dan tidak diberikan *thymoquinone*

selama 14 hari. Kelompok perlakuan 1 (P1) diinduksi rifampisin 100mg/100gBB dan diikuti dengan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB/hari selama 14 hari. Kelompok perlakuan 2 (P2) diinduksi rifampisin 100mg/100gBB dan diikuti dengan pemberian *thymoquinone* dosis 10 mg/kgBB/hari selama 14 hari. Kelompok perlakuan 3 (P3) diinduksi rifampisin 100mg/100gBB dan diikuti dengan pemberian *thymoquinone* dosis 20 mg/kgBB/hari selama 14 hari.

3.3.4. Kriteria Inklusi

- a. Sehat (tidak nampak sakit, rambut tidak rontok dan tidak nampak kusam, aktivitas aktif).
- b. Jantan.
- c. Berat Badan 200-300 gram.
- d. Usia 2-3 bulan atau 10-12 minggu.

3.3.5. Kriteria Eksklusi:

- a. Terdapat penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi.
- b. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus serta genital).
- c. Mati selama masa pemberian perlakuan.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

- a. Kandang tikus terbuat dari bahan plastik berukuran 40x20x20 cm³ dengan tutup kawat.
- b. Tempat makan dan minum hewan.
- c. Timbangan.
- d. Timbangan digital .
- e. Sonde lambung.
- f. Stopwatch.
- g. Spuit 1cc.
- h. Alat bedah minor.
- i. Tabung.
- j. Handschoen, kapas, dan alkohol.
- k. Mikroskop.

3.4.2. Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu :

- a. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*.
- b. Pakan hewan berupa pelet.
- c. *Thymoquinone*.
- d. Rifampisin.

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. *Ethical Clearance*

Penelitian yang menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur *Sprague dawley* telah mendapatkan surat kelayakan etik untuk melakukan penelitian dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor 084/UN26.8/DL/2017.

Dasar etika dalam proses penelitian memperhatikan protokol 3R, yaitu:

- a. *Replacement* adalah keperluan memanfaatkan hewan percobaan yang telah diperhitungkan, baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur dan tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan
- b. *Reduction* adalah pemanfaatan hewan dalam penelitian sedikit mungkin, tetapi tetap mendapatkan hasil yang optimal. Pada penelitian ini jumlah minimum biasa dihitung menggunakan rumus Frederer yaitu $t(n-1) \geq 15$, dengan n adalah jumlah hewan yang diperlukan dan t adalah jumlah kelompok perlakuan
- c. *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi (*humane*), memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti hewan, serta meminimalisasi perlakuan yang menyakitkan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba sampai akhir penelitian (Ridwan, 2013).

3.5.2. Pengadaan Hewan Coba

Pada penelitian hewan coba yaitu, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dengan galur *Sprague dawley* sebanyak 25 ekor yang diperoleh dari laboratorium Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Palembang.

3.5.3. Adaptasi Hewan Coba

Sebelum memulai perlakuan, tikus terlebih dahulu diadaptasi selama 7 hari dan diukur berat badannya. Selama masa adaptasi dan masa perlakuan, tikus diberi makan pelet ayam serta minuman air *ad libitum*.

3.5.4. Pembagian Kelompok

Seluruh hewan coba dibagi secara random kedalam 5 kelompok percobaan. Kelompok tikus yang tidak diinduksi rifampisin dan tidak diberikan *thymoquinone* adalah kelompok kontrol 1 (K1), kelompok tikus yang diberikan rifampisin dan tidak diberikan *thymoquinone* adalah kelompok kontrol 2 (K2), dan 2 kelompok yang diinduksi rifampisin diikuti pemberian *thymoquinone* dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB adalah kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 (P1, P2 dan P3).

3.5.5. Prosedur Pemberian Dosis *Thymoquinone*

Thymoquinone yang didapat dari SIGMA ALDRICH merupakan *thymoquinone* bentuk serbuk, sehingga harus dilarutkan dalam minyak zaitun terlebih dahulu (Al-ali *et. al*, 2008; Kiziltan *et. al*, 2016). Dosis *thymoquinone* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 20 mg/kgBB, masing-masing dosis tersebut akan dilarutkan dalam 0,5 ml minyak zaitun. Hal ini berarti sebagai berikut:

a. Dosis untuk kelompok I

Pada tikus berat rata-rata 200 g maka dosis per ekor tikus sebesar :

$$200 \text{ g} = 0,2 \text{ kg, maka } 5 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 1 \text{ mg (per ekor tikus)}$$

b. Dosis untuk kelompok II

Pada tikus berat rata-rata 200 g maka dosis per ekor tikus sebesar :

$$200 \text{ g} = 0,2 \text{ kg, maka } 10 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 2 \text{ mg (per ekor tikus)}$$

c. Dosis untuk kelompok III

Pada tikus berat rata-rata 200 g maka dosis per ekor tikus sebesar :

$$200 \text{ g} = 0,2 \text{ kg, maka } 20 \text{ mg/kgBB} \times 0,2 \text{ kg} = 4 \text{ mg (per ekor tikus).}$$

3.5.6. Prosedur Pemberian Rifampisin

Dosis rifampisin yang digunakan adalah 100 mg/100gBB atau 1 g/kgBB per oral. Berat tikus yang digunakan dalam penelitian adalah 200 g sampai 300 g, di bawah ini contoh perhitungan dosis rifampisin jika berat tikus 200g:

$$100\text{mg}/100\text{gBB} \times 200\text{g} = 200 \text{ mg (per ekor tikus)}$$

Dosis rifampisin yang dipilih adalah rifampisin tablet sediaan 600 mg, hal ini dikarenakan pemberian peroral. Rifampisin tablet digerus dan dilarutkan dalam 6 ml aquadest. Jadi dalam 1ml larutan rifampisin terdapat 100 mg. Pemberian larutan rifampisin akan disesuaikan dengan berat badan tikus.

3.5.7. Prosedur Perlakuan

- a. Tikus sebanyak 25 ekor, dikelompokkan dalam 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol normal, hanya diberi akuades dan minyak zaitun. Kelompok II sebagai kontrol patologis, diberikan rifampisin dengan dosis 100 mg/100gBB. Kelompok III, IV, V adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian rifampisin dosis 100 mg/100gBB, kemudian selang 2–4 jam dilakukan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB untuk kelompok III, kelompok IV dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 10 mg/kgBB, dan kelompok V dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 20 mg/kgBB. Pemberian rifampisin dan *thymoquinone* diberikan selama 14 hari.
- b. Dilakukan laparatomi pada tikus yang telah dinarkosis dengan ketamin dan diambil ginjal untuk dibuat sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan *Hematoksilin & Eosin*.
- c. Sampel ginjal difiksasi dengan formalin 10% dan dikirim ke Balai Veteriner Bandar Lampung untuk pembuatan sediaan mikroskopis jaringan ginjal. Pembuatan sediaan akan dikerjakan oleh staff ahli laboratorium patologi anatomi.

3.5.8. Prosedur Operasional Pembuatan Slide

Pembuatan preparat histopatologi menggunakan metode sebagai berikut (Mahesya, 2014).

a. *Fixation*

1. Spesimen berupa potongan organ ginjal yang telah dipotong secara representatif kemudian segera difiksasi dengan formalin 10% selama 3 jam.
2. Dicuci dengan air mengalir sebanyak 3–5 kali.

b. *Trimming*

1. Organ dikecilkan hingga ukuran ± 3 mm.
2. Potongan organ ginjal tersebut lalu dimasukkan ke dalam tissue cassette.

c. *Dehidrasi*

1. Mengeringkan air dengan meletakkan tissue cassette pada kertas tisu.
2. Dehidrasi dengan:
 - i. Alkohol 70% selama 0,5 jam.
 - ii. Alkohol 96% selama 0,5 jam.
 - iii. Alkohol 96% selama 0,5 jam.
 - iv. Alkohol 96% selama 0,5 jam.
 - v. Alkohol absolut selama 1 jam.
 - vi. Alkohol absolut selama 1 jam.
 - vii. Alkohol absolut selama 1 jam.
 - viii. Alkohol xylol 1:1 selama 0,5 jam.

d. *Clearing*

Untuk membersihkan sisa alkohol, dilakukan clearing dengan xylol I dan II, masing-masing selama 1 jam.

e. *Impregnasi*

Impregnasi dilakukan dengan menggunakan parafin selama 1 jam dalam oven suhu 65°C.

f. *Embedding*

1. Sisa parafin yang ada pada pan dibersihkan dengan memanaskan beberapa saat di atas api dan diusap dengan kapas.
2. Parafin cair disiapkan dengan memasukkan parafin ke dalam cangkir logam dan dimasukkan dalam oven dengan suhu diatas 58°C.
3. Parafin cair dituangkan ke dalam pan.
4. Dipindahkan satu persatu dari tissue cassette ke dasar pan dengan mengatur jarak yang satu dengan yang lainnya.
5. Pan dimasukkan ke dalam air.
6. Parafin yang berisi potongan ginjal dilepaskan dari pan dengan dimasukkan ke dalam suhu 4–6°C beberapa saat.
7. Parafin dipotong sesuai dengan letak jaringan yang ada dengan menggunakan skalpel/pisau hangat.
8. Lalu diletakkan pada balok kayu, diratakan pinggirnya dan dibuat ujungnya sedikit meruncing.
9. Memblok parafin, siap dipotong dengan mikrotom.

g. *Cutting*

1. Pemotongan dilakukan pada ruangan dingin.
2. Sebelum dimotong blok didinginkan terlebih dahulu di lemari es.
3. Dilakukan pemotongan kasar, lalu dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4–5 mikron. Pemotongan dilakukan menggunakan *rotary microtome* dengan *disposable knife*.
4. Dipilih lembaran potongan yang paling baik, diapungkan pada air, dan dihilangkan kerutannya dengan cara menekan salah satu sisi lembaran jaringan tersebut dengan ujung jarum dan sisi yang lain ditarik menggunakan kuas runcing.
5. Lembaran jaringan dipindahkan ke dalam water bath suhu 60°C selama beberapa detik sampai mengembang sempurna.
6. Dengan gerakan menyendok, lembaran jaringan tersebut diambil dengan slide bersih dan ditempatkan di tengah atau pada sepertiga atas atau bawah.
7. Slide yang berisi jaringan ditempatkan pada inkubator (suhu 37°C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

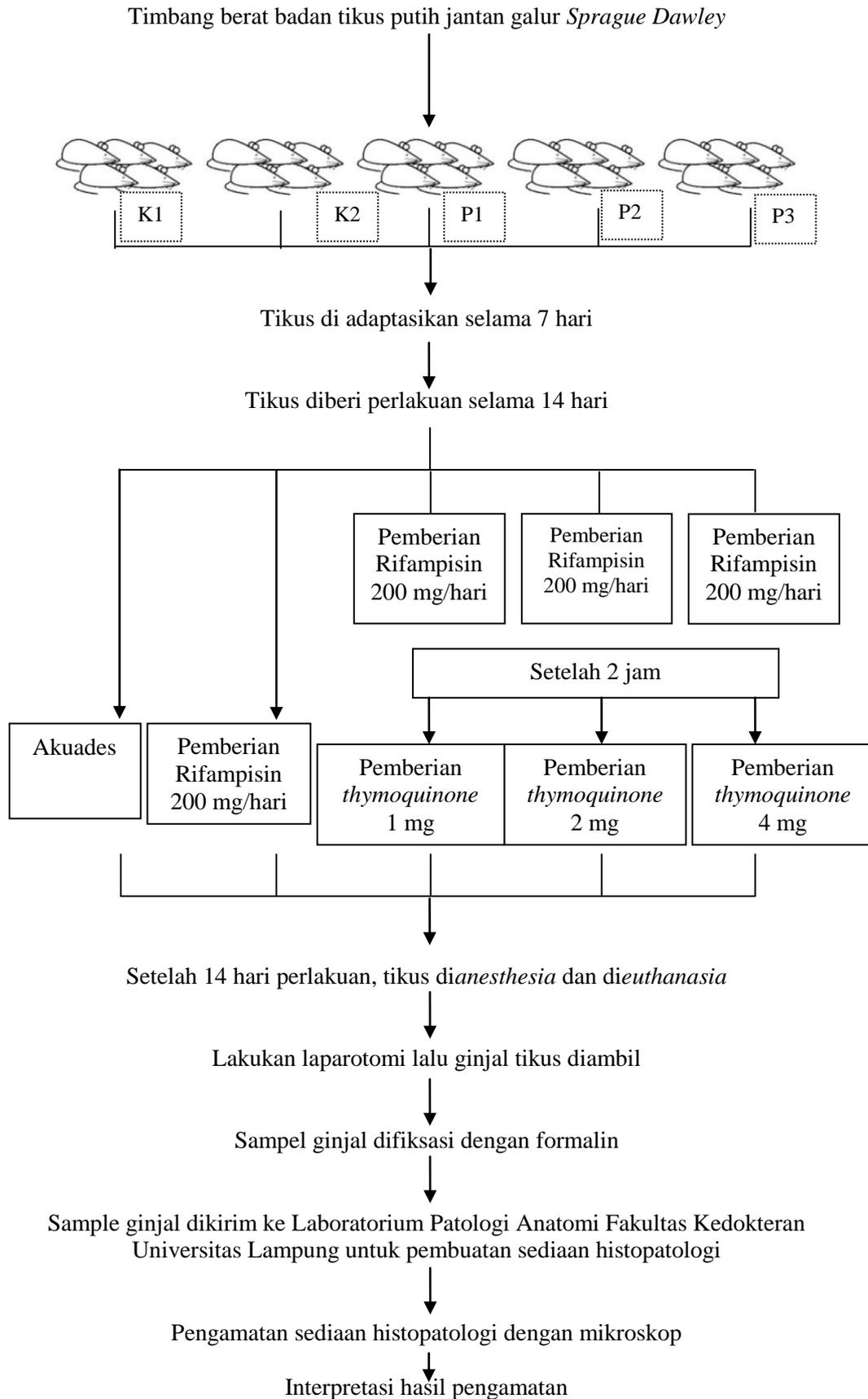
h. *Staining* atau pewarnaan dengan Harris Hematoksilin–Eosin

Setelah jaringan melekat sempurna pada slide, dipilih slide yang terbaik, selanjutnya secara berurutan memasukkan ke dalam zat kimia dibawah ini dengan waktu sebagai berikut:

1. Dilakukan deparafinisasi dalam:
 - a) Larutan xylol I selama 5 menit
 - b) Larutan xylol II selama 5 menit
 - c) Ethanol absolut selama 1 jam.
 2. Hidrasi dalam:
 - a) Alkohol 96% selama 2 menit
 - b) Alkohol 70% selama 2 menit
 - c) Air selama 10 menit.
 3. Pulasan inti dibuat dengan menggunakan:
 - a) Harris Hematoksilin selama 15 menit
 - b) Dibilas dengan air mengalir,
 - c) Diwarnai dengan eosin selama maksimal 1 menit.
 4. Selanjutnya, didehidrasi dengan menggunakan:
 - a) Alkohol 70% selama 2 menit
 - b) Alkohol 96% selama 2 menit
 - c) Alkohol absolut selama 2 menit.
 5. Penjernihan dengan:
 - a) Xylol I selama 2 menit
 - b) Xylol II selama 2 menit.
- i. *Mounting* dengan entelan dan tutup dengan *deck glass*
- Setelah pewarnaan selesai, slide ditempatkan di atas kertas tisu pada tempat datar, ditetesi dengan bahan mounting, yaitu entelan, dan ditutup dengan *deck glass*, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

j. Slide dibaca dengan mikroskop

Slide diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Preparat histopatologi dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi dan pembacaan dilakukan oleh ahli patologi anatomi.



Gambar 11. Diagram alur penelitian

3.6. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional

3.6.1. Identifikasi Variabel

a. Variabel Bebas

Pada penelitian ini variabel bebas adalah *thymoquinone* dan rifampisin yang diberikan kepada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Spargue dawley*.

b. Variabel Terikat

Pada penelitian ini yang termasuk ke dalam variabel terikat adalah gambaran histopatologi ginjal yang diinduksi rifampisin.

c. Variabel Perantara

1. Variabel yang dapat dikendalikan

Variabel perantara yang dapat dikendalikan adalah jenis tikus, umur tikus, makanan tikus, minuman tikus, dosis *thymoquinone* dan rifampisin.

2. Variabel yang tidak dapat dikendalikan

Variabel perantara yang tidak dapat dikendalikan adalah absorpsi *thymoquinone* dan rifampisin.

3.6.2. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
<i>Thymoquinone</i>	<i>Thymoquinone</i> sintesis yang dibeli dari perusahaan kimia.	Timbangan	Dosis <i>thymoquinone</i> (1mg, 2mg dan 4mg)	Numerik
Histopatologi ginjal	Gambaran histopatologi ginjal dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang berdasarkan ada tidaknya kerusakan jaringan ginjal yang ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang, edema dan nekrosis tiap lapangan pandang dijumlahkan dan dirata-ratakan.	Mikroskop cahaya	<p>Kerusakan glomerulus</p> <p>0= gambaran normal</p> <p>1= infiltrasi sel radang</p> <p>2= edema spatium bowman</p> <p>3= nekrosis</p> <p>Kerusakan tubulus</p> <p>0= gambaran normal</p> <p>1= infiltrasi sel radang</p> <p>2= pembengkakan sel epitel tubulus</p> <p>3= nekrosis</p> <p>Kriteria penilaian derajat kerusakan ginjal diambil dari kerusakan tertinggi kemudian dihitung dari skor kerusakan tubulus ginjal dan skor kerusakan glomerulus dengan total skor terusakan yaitu 0-6 (Muhartono <i>et al.</i>, 2016).</p>	Numerik

3.7. Pengolahan dan Analisis Data

3.7.1. Pengolahan Data

Data yang telah diperoleh dari proses pengumpulan data akan diubah kedalam bentuk table-tabel, kemudian proses pengolahan data menggunakan program komputer yang terdiri beberapa langkah:

- a. Koding, untuk mengkonversikan (menerjemahkan) data yang dikumpulkan selama penelitian kedalam simbol yang cocok untuk keperluan analisis.
- b. Data entry, memasukkan data kedalam komputer.
- c. Verifikasi, memasukkan data pemeriksaan secara visual terhadap data yang telah dimasukkan kedalam komputer.
- d. Output komputer, hasil yang telah dianalisis oleh komputer kemudian dicetak.

3.7.2. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik menggunakan *software* statistik. Hasil penelitian dianalisis apakah memiliki distribusi normal atau tidak secara statistik dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel ≤ 50 . Kemudian, dilakukan uji Levene untuk mengetahui apakah dua atau lebih kelompok data memiliki varians yang sama atau tidak. Jika varians data berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan metode uji parametrik *One Way ANOVA*. Bila tidak memenuhi syarat uji parametrik, digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Hipotesis dianggap bermakna bila $p < 0,050$. Jika pada uji ANOVA atau *Kruskal-Wallis* menghasilkan nilai $p < 0,050$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post-Hoc* LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

- a. *Thymoquinone* dengan dosis 5mg/kgBB dan 10mg/kgBB memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.
- b. Pada penelitian ini peningkatan dosis *thymoquinone* tidak dapat meningkatkan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan dosis *thymoquinone* yang lebih bervariasi, sehingga dapat diketahui dosis *thymoquinone* yang paling tepat dan efektif untuk mengurangi kerusakan sel ginjal
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jangka waktu yang lebih lama untuk melihat hubungan durasi waktu dan frekuensi pemberian *thymoquinone* terhadap gambaran kerusakan ginjal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiyati PN. 2011. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK *et al.*, 2013. Review on therapeutic potential of *Nigella sativa* a miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed*.3(5):337–52.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilisasi*. Jakarta: Adabia Press pp 6-7.
- Al-Ali A, Alkhawajah A, Randhawa M, Shaikh NA. 2008. Oral and intraperitoneal LD50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats. *Journal of Ayub Medical College, Abbottabad: JAMC*. 20(2): 25–27.
- Ali SA, Asghar F, Nafees M, Tayyab M. 2012. Effect of *Nigella Sativa* (Kalonji) on Serum Lipid Profile. *ANNALS*. 18:224-228.
- Amalina HA. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 40% kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan yang diinduksi rifampisin. [Skripsi]. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
- Astuti W. 2012. Efek proteksi pemberian ekstrak buah mahkota dewa terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin. [Skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Beebe A, Seaworth B, Naveen P. 2015. Rifampicin induced nephrotoxicity in a tuberculosis patient. *Journal of Clinical Tuberculosis and Mycobacterial Disease*. 1(15):13-15.
- Chasani S. 2007. *Penurunan Fungsi Ginjal, dalam Naskah Lengkap Diabetes Melitus Ditinjau dari Aspek Penyakit Dalam*. Semarang: Universitas Diponegoro. hlm. 181-188.

- Chiba S, Tsuchiya K, Sakashita H, Eisaku Ito E, Inase N. 2013. Rifampicin-induced acute kidney injury during the initial treatment for pulmonary tuberculosis. *Intern Med.* 52: 2457-2460.
- Dewoto HR. 2007. Pengembangan obat tradisional menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia.* 57(7):205-211.
- Drake RL, Vogl AW, Mitchell AW. 2010. Gray's Anatomy for Student. Edisi 2. Canada : Churchill Livingstone Elsevier. p. 320-322.
- El-sheikh AAK, Morsy MA, Abdalla AM, Hamouda AH, Alhaider IA. 2015. Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate-induced toxicity in rats. *Hindawi Publishing Corporation.* 15:859383.
- Eroschenko VP. 2010. Atlas histologi difiore. Jakarta: EGC. hlm. 371.
- Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elisabeth. 2007. *Farmakologi dan Terapi.* 5(7):616-617.
- Guyton AC, Hall JE. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* 2006. Penterjemah: Irawati, Ramadani D, Indriyani F. Edisi ke-11. Jakarta: EGC. hlm.326-449.
- Junquiera LC, Carneiro J. 2007. *Histologi Dasar.* 2007. Edisi ke-10. Jakarta: EGC. hlm. 325-340.
- Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. 2005. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology.* 11(42):6662-6666.
- Katzung BG. 2008. *Farmakologi Dasar dan Klinik.* Edisi 9. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. hlm. 635-640.
- Khakim JL. 2007. Pengaruh jus buah pepaya (*Carica papaya*) terhadap kerusakan histologis lambung mencit yang diinduksi aspirin. http://digilib.uns.ac.id/abstrak.pdf.php?d_id=12171. diakses pada tanggal 1 Januari 2017.
- Khotimah H, Subandi, Atho'illah, R. 2006. Pengaruh pemberian ekstrak jinten hitam (*Nigella sativa*) peroral terhadap rasio pengelupasan sel endotel aorta tikus (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* yang dipapar asap rokok kretek subkronis. [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya.
- Kiziltan R, Yilmaz O, Celik S, Yildirm S, Alp H, Aras A, *et al.* (2016). Effect of thymoquinone on the healing of left colon anastomosis: an experimental study. *Springer Plus.* 5(1): 956.

- Lerma EV, Berns J, Nissenson A. 2008. Current diagnosis & treatment nephrology & hypertension. USA: Lange. pp. 314.
- Mabrouk A, Cheikh H. 2016. Thymoquinone ameliorates lead-induced suppression of the antioxidant system in rat kidneys. *Libyan Journal Med.* 1(6):1-5.
- Mahmoud A. 2015. Prunus armeniaca Leave Extract Protects against Isoniazid and Rifampicin Induced Nephrotoxicity through Modulation of Oxidative stress and Inflammation. *International Journal of Food and Nutrition Science.* 2(4):1-6.
- Mahmoud AM, Ahmed OM, Galaly SR. 2014. Thymoquinone and curcumin attenuate gentamicin-induced renal oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *EXCLI Journal.* 13(14):98–110.
- Mapp EH, Kojong N. 2013. Formulasi gel ekstrak daun sasaladahan (peperomia pellucida (L.) H.B.K) dan uji efektivitasnya terhadap luka bakar pada kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi.* 2 (2): 52.
- Marieb EN, Hoehn K. 2010. *The Digestive System Human anatomy & Physiology.* Edisi ke-8. United States of America: Pearson Education Inc. hlm. 961-984.
- Masuda T, Yukiko T, Hiromi B, Tomomi M, Yoshio T, Hichemasa Y. 2002. Structural identification of new curcumin dimers and their contribution to the antioxidant of curcumin. *J. Agric. Food. Clem* 50, 2524-2530.
- Mescher AL. 2012. *Histologi Dasar Junqueira Teks dan Atlas.* Edisi ke-11. Jakarta: EGC. hlm. 325-340.
- Min HK, Kim EO, Lee SJ, Chang YK, Suh KS, Yang CW., et al. 2013. Rifampin-associated tubulointerstitial nephritis and Fanconi syndrome presenting as hypokalemic paralysis. *BMC Nephrol* [Internet]. 14(1):13. Tersedia dari: <http://www.biomedcentral.com/1471-2369/14/13>.
- Muhartono, Windarti I, Liantari DS, Susianti. 2016. Risiko herbisida paraquat diklorida terhadap ginjal tikus putih sprague dawley. *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 29(1):43-46.
- Price sylvia A, Wilson LM. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis dan Proses-proses Penyakit.* Edisi ke-6. Volume 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 868-892.
- Ridwan E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal Indonesia Medical Association.* 63(3).

- Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC. hlm. 571-573.
- Sanchez O, Arnau A, Pareja M, Poch E, Ramirez I, Soley M. 2002. Acute stress-induced tissue injury in mice; differences between emotional and social stress. Cell Stress Society International. Barcelona.
- Setiorini Y. 2012. Deteksi secara imunohistokimia imunoglobulin A (IgA) pada usus halus tikus yang diberi bakteri asam laktat (BAL) dan enteropatogenik escherichia coli. *Journal of Scientific Resporitory*. 3(1):44–50.
- Sherwood L. 2011. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Edisi IV. Jakarta: EGC.
- Singh NP, Ganguli A, Prakash A. 2003. Drug induced kidney disease. Resident : Nephrology Division of Medicine. Maulana Azad. MedicalCollege and Lok Nayak Hospital. New Delhi. vol. 51.
- Sirois M. 2005. *Laboratory Animal Medicine Principles and Procedures*. Elsevier Mosby. Missouri. hlm. 55-75.
- Slomianka L. 2009. Blue-histologi urinary system. School of anatomy and human biology -The University of Western Australia. Australia. [Diakses 20 Agustus 2016].
- Tjay TH, Rahardja K. (2007). *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi ke VI. Jakarta: PT Elex Media Komputindo: hlm. 193.
- Vahdati MN, Rakhshandeh H, Omid A. 2005. An investigation on LDS0 and subacute hepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice. *Pharmazle*. 60(7): 544-547.
- World Health Organization. 2008. The International Pharmacopoeia. Edisi 4. *Electronic Version Geneva*. World Health Organization.
- Wulaningsih PS. 2008. Uji aktivitas antioksidan senyawa campuran derivat kurkumin dan katekin hasil isolasi dari daun teh (*Camelia sinensis*). [Skripsi]. Depok: Fakultas FMIPA Departemen Kimian Universitas Indonesia.
- Zaher KS, Ahmed WM, Zerizer SN. 2008. Observations on the biological effects of black cumin seed (*Nigella sativa*) and green tea (*Camellia sinensis*). *Glob Vet*. 2(4):198–204.