

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS MADU TRIGONA DAN
MADU SIDR DIKOMBINASIKAN DENGAN
MINYAK JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*) SEBAGAI
NEFROPROTEKTOR TIKUS WISTAR
(*RATTUS NORVEGICUS*) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**

SKRIPSI



Oleh:

SHINTA DAMAYANTI

1808260031

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

2022

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS MADU TRIGONA DAN
MADU SIDR DIKOMBINASIKAN DENGAN
MINYAK JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*) SEBAGAI
NEFROPROTEKTOR TIKUS WISTAR
(*RATTUS NORVEGICUS*) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh kelulusan
Sarjana Kedokteran**



Oleh:

SHINTA DAMAYANTI

1808260031

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
2022**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertandatangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber, baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Shinta Damayanti

NPM : 1808260031

Judul Skripsi : Perbandingan Efektivitas Madu Trigona Dan Madu Sidr
Dikombinasikan Dengan Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*)
Sebagai Nefroprotektor Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang
Diinduksi Parasetamol

Dengan pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 02 Februari 2022



Shinta Damayanti



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488
Website : www.umsu.ac.id E-mail : rektor@umsu.ac.id
Bankir : Bank Syariah Mandiri, Bank Bukopin, Bank Mandiri, Bank BNI 1946, Bank Sumut.

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Shinta Damayanti

NPM : 1808260031

Judul : PERBANDINGAN EFEKTIVITAS MADU TRIGONA DAN
MADU SIDR DIKOMBINASIKAN DENGAN MINYAK
JINTAN HITAM (*NIGELLA SATIVA*) SEBAGAI
NEFROPROTEKTOR TIKUS WISTAR (*RATTUS*
NORVEGICUS) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

DEWAN PENGUJI
Pembimbing,

(dr. Des Suryani, M.Biomed)

Penguji 1

(dr. Yenita, M.Biomed, Sp.KKLP)

Penguji 2

(dr. H. Elman Boy, M.Kes, FIS-PH, FIS-CM, AIFO-K, Sp.KKLP)

Dekan FK-UMSU

(dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL (K))

NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

FK-UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)

NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 02 Februari 2022

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala karena berkat rahmatNya, saya dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. dr. Siti Masliana Siregar.,Sp.THT-KL (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. dr. Desi Isnayanti,M.Pd.Ked selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter.
3. dr. Des Suryani, M.Biomed selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan skripsi ini.
4. dr. Yenita, M.Biomed, Sp.KKLP dan dr. H. Elman Boy, M.Kes,FIS-PH, FIS-CM, AIFO-K, Sp.KKLP yang telah bersedia menjadi dosen penguji satu dan dua yang memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
5. Orangtua dan keluarga tercinta, Abi Sutrisno, Umi Pariah., Syahri yadi, Tengku Muhamad Nurdiansyah, Dea Sapitri, dan Elsyah Mulyani, yang telah memberikan doa, kasih sayang luar biasa dan dukungan material maupun moral.
6. Seluruh laboran dan staf pekerja di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah banyak membantu selama berlangsungnya penelitian.
7. Sejawat Ririn widiawati, Aqilah Hanifah, Riski Ananda Hasibuan, Malinda Nuriani Hasibuan, Neli Adelia Resmalita dan Aulia Rahmi

Pratiwi serta seluruh angkatan 2018 yang telah banyak membantu dalam usaha memperoleh data yang saya perlukan, saling membantu dan memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Saya menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu kritik dan saran demi kesempurnaan tulisan ini sangat saya harapkan.

Akhir kata, Saya berharap Allah Subhanahu Wata'ala berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 02 Februari 2022
Penulis,

Shinta Damayanti

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,
saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Shinta Damayanti
NPM : 1808260031
Fakultas : Fakultas Kedokteran

demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Non Eksklusif atas skripsi saya yang berjudul: Perbandingan Efektivitas Madu Trigona dan Madu Sidr dikombinasikan dengan Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) sebagai Nefroprotektor Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang diinduksi Parasetamol. Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media/formatkan mengelola dalam dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada Tanggal : 02 Februari 2022

Yang menyatakan

Shinta Damayanti

ABSTRAK

Latar Belakang : Parasetamol adalah salah satu obat analgetik-antipiretik yang paling umum digunakan di seluruh dunia. Penggunaan dengan dosis toksik dapat menimbulkan kerusakan ginjal. Minyak jintan hitam dan madu digunakan sebagai obat untuk berbagai masalah kesehatan. madu trigona adalah madu multiflora dan madu sidr merupakan madu monoflora yang telah diolah dengan lebih baik, dan diimpor dari luar negeri dengan harga yang mahal. **Tujuan:** membandingkan efektivitas minyak jintan hitam ditambah madu trigona dengan minyak jintan hitam ditambah madu sidr terhadap fungsi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol. **Metode:** penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only with controlled group design*. Sebanyak 4 kelompok diberi perlakuan selama 28 hari. Uji kadar Ureum dan Kreatinin dilakukan. Analisis data menggunakan *one way ANOVA post hoc bonferroni*. **Hasil:** Terdapat pengaruh pemberian parasetamol dosis tunggal 2 g/KgBB pada fungsi ginjal tikus ditandai dengan peningkatan kadar Ureum dan kreatinin pada kelompok KP, tidak terdapat perbedaan signifikan pemberian minyak jintan hitam dosis 2 ml/kgBB ditambah madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB dan minyak jintan hitam dosis 2 ml/kgBB ditambah madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgBB selama 28 hari terhadap ginjal tikus yang telah diinduksi parasetamol ($p>0,05$). **Kesimpulan :** Pemberian parasetamol memiliki pengaruh terhadap kerusakan ginjal tikus. Serta pemberian minyak jintan hitam ditambah madu dibandingkan dengan minyak jintan hitam ditambah madu trigona memiliki efek nefroprotektor yang sama. **Kata kunci:** *Ginjal, kreatinin, madu sidr , madu trigona, minyak jintan hitam, parasetamol, ureum*

ABSTRACT

Background: Paracetamol is one of the most commonly used analgesic-antipyretic drugs worldwide. Use with toxic doses can cause kidney damage. Black cumin oil and honey are used as medicine for various health problems. Trigona honey is a multiflora honey and Sidr honey is a monoflora honey which have been processed better, and imported from abroad at high prices. **Objective:** To compare the effectiveness of black cumin oil plus trigona honey with black cumin oil plus sidr honey on rats' kidney function induced by paracetamol. **Methods:** experimental research with posttest only with controlled group design. A total of 4 groups were treated for 28 days. Urea and Creatinine levels were tested. Data analysis used one-way ANOVA post hoc Bonferroni. **Results:** There was an effect of giving a single dose of paracetamol 2 g/kg BW on kidney function of rats characterized by increased levels of urea and creatinine in the KP group, there was no significant difference in giving black cumin oil at a dose of 2 ml/kg BW plus sidr honey at a dose of 1 g/kg BW and black cumin oil at a dose of 2 ml/kg BW plus trigona honey at a dose of 7.4 ml/kg BW for 28 days on the kidneys of rats that had been induced by paracetamol ($p > 0.05$). **Conclusion:** Giving paracetamol affects kidney damage in rats. And the administration of black cumin oil plus honey compared to black cumin oil plus trigona honey had the same nephroprotector effect.

Keywords: Black cumin oil, creatinine, kidney, paracetamol, sidr honey, trigona honey, urea

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI.....	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat penelitian.....	4
1.5 Hipotesis.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Ginjal.....	6
2.1.1 Anatomi Ginjal.....	6
2.1.2 Fisiologi Ginjal	8
2.2 Paracetamol	9
2.2.1 Definisi dan Fungsi Parasetamol	9
2.2.2 Dosis Terapi Parasetamol.....	9
2.2.3 Struktur Kimia Parasetamol	9
2.2.4 Farmakokinetik dan Metabolisme Parasetamol	10
2.2.5 Farmakodinamik Parasetamol.....	10
2.2.6 Pengaruh Parasetamol Dosis Toksik Terhadap Kerusakan Ginjal.....	10
2.3 Jintan Hitam	12
2.4 Farmakokinetik Thymoquinone	15
2.5 Madu	15
2.5.1 Madu Trigona.....	18
2.5.2 Madu Sidr.....	19
2.6 Farmakokinetik dan Metabolisme Flavonoid	20
2.7 Radikal bebas	20
2.8 Antioksidan	21
2.9 Prinsip Spektrofotometer	22
2.10 Blood Urea Nitrogen (BUN).....	23

2.11 Kreatinin Serum	24
2.12 Kerangka Teori.....	26
2.13 Kerangka Konsep	27
BAB 3 METODE PENELITIAN	28
3.1 Definisi Operasional.....	28
3.2 Tempat dan Waktu	30
3.2.1 Tempat Penelitian.....	30
3.2.2 Waktu Penelitian	30
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	30
3.4 Prosedur Penelitian.....	32
3.4.1 Alat.....	32
3.4.1.1 Pengambilan Darah.....	32
3.4.1.2 Pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum.....	33
3.4.2 Bahan	33
3.4.2.1 Perlakuan	33
3.4.2.2 Pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum.....	33
3.4.3 Uji Fitokimia Minyak Jintan Hitam.....	34
3.4.4 Uji Fitokimia Madu.....	35
3.4.5 Persiapan Hewan Coba	36
3.4.6 Pemberian Perlakuan.....	36
3.4.7 Cara Pemberian Obat Oral pada Tikus wistar (<i>rattus norvegicus</i>)	37
3.4.8 Pengambilan Sampel Darah	38
3.4.9 Analisis BUN dan Kreatinin serum	38
3.5 Metode Pengumpulan Data	39
3.6 Metode Analisis Data	39
3.7 Alur penelitian	40
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Hasil Penelitian	41
4.2 Analisis Data	42
4.3 Pembahasan.....	44
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Definisi Operasional	28
Tabel 3.2 Waktu Penelitian	30
Tabel 3.3 Analisis Urea Metode dua reaksi-substrat	37
Tabel 3.4 Analisis Urea Metode monoreaksi-sampel	38
Tabel 3.5 Analisis Kreatinin	39
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Minyak jintan hitam , Madu sidr dan Madu Trigona secara Kualitatif	41
Tabel 4.2 Rerata kadar BUN dan Kreatinin pada kelompok penelitian.....	42
Tabel 4.3 Hasil Uji Normalitas Kadar Ureum Kelompok KN, KP, P1 dan P2.....	43
Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kadar Kreatinin Kelompok KN, KP, P1 dan P2.....	43
Tabel 4.5 Hasil uji <i>Bonferroni</i> kadar Ureum kelompok KN, KP, P1 dan P2	43
Tabel 4.6 Hasil uji <i>Bonferroni</i> kadar Kreatinin kelompok KN, KP, P1 dan P2 ..	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Letak Ginjal.....	6
Gambar 2.2 Bagian-bagian dari Ginjal	7
Gambar 2.3 Struktur Kimia Parasetamol	9
Gambar 2.4 (A) Tumbuhan <i>N. sativa</i> , (B) Bunga, (C) Kapsul Buah, (D) Biji	13
Gambar 2.5 Thymoquinone	14
Gambar 2.6 Madu.....	15
Gambar 2.7 Asam Fenolik dan Flavonoid Madu	16
Gambar 2.8 Siklus Urea	23
Gambar 2.9 Metabolisme Kreatinin.....	24
Gambar 2.10 Kerangka teori	26
Gambar 2.11 Kerangka Konsep	27
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	40

DAFTAR SINGKATAN

APAP	:Acetyl-para-aminophenol
BHA	:Butylated Hidroxyquinon
BHT	:Butylated Hydroxytoluene
BPOM	:Badan Pengawasan Obat dan Makanan
BUN	:Blood Urea Nitrogen
COMT	:Katekol- O-metiltransferase
COX	:Siklooksigenase
COX-2	:Siklooksigenase-2
CRP	:C-Reaktif Protein
CYP450	:Cytochrome P450
DNA	:Deoxyribonucleic acid
GFR	:Gromerular filtration rate
GPx	:Gluthation Peroksidase
GSH	:Glutation sulfhidril
HPLC	:High Performance Liquid Chromatography
IHC	:International Honey Commission
I κ B α	:Inhibitor nf kappa B
IL	:Interleukin
iNOs	:Inducible nitric oxide synthase
IP	:Intraperitoneal
LDL	:Low Density Lipoprotein
LOX	:Lipoksigenase
LOX-2	:Lipoxygenase 2
LPH	:Lactase phlorizin hidrolase
MAPK	:Mitogen-activated protein kinase
MDA	:Malondialdehyde
MMP-9	:Matrix metalloproteinase 9
mRNA	:Messenger-Ribosa Nucleic Acid
NAPQI	:N-acetyl-p-benzoquinone imine
NF-K β	:nuclear factor kappa B
PBQI	:P-benzoquinone
PDGF	:Platelet-derived growth factor
ROS	:Reactive Oxygen Species
SOD	:Superoksida dismutase
TAS	:Total Antioksidan Status
TBHQ	:Tert-Butylated Hydroquinone
TGF- β	:Transforming growth factor β
TQ	:Thymoquinone
UGTs	:Enzim urine-5-difosfat glucuronosyltransferases
UPHL	:Unit Pengelola Hewan Laboratorium
UV	:Ultraviolet

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Surat Izin Penelitian.....	55
Lampiran 2 Perhitungan Dosis Madu Trigona, Madu Sidr dan Minyak Jintan Hitam Berdasarkan Rerata Berat Badan Tikus	56
Lampiran 3 Perhitungan Dosis Parasetamol Berdasarkan Rerata Berat Badan Tikus	58
Lampiran 4 <i>Ethical Clearance</i>	60
Lampiran 5 Surat Izin Penelitian Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi USU	61
Lampiran 6 Hasil Uji Fitokimia	62
Lampiran 7 Surat Izin Penelitian Kepada UPT Laboratorium Kesehatan Daerah.....	63
Lampiran 8 Hasil Pemeriksaan Kadar BUN dan Kreatinin	64
Lampiran 9 Dokumentasi.....	65
Lampiran 10 Proses Data SPSS	68
Lampiran 11 Daftar Riwayat Hidup.....	70
Lampiran 12 Artikel Publikasi	72

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keadaan homeostasis dari tubuh manusia salah satunya dipertahankan oleh fungsi ginjal yang baik. Ginjal merupakan organ eliminasi utama untuk seluruh obat yang digunakan per oral, inhalasi atau transdermal, namun demikian pada batas-batas tertentu ginjal tidak dapat melakukan fungsinya dalam eliminasi obat sehingga menyebabkan tertimbunnya obat dalam ginjal yang dapat menyebabkan cedera di daerah tubulus proksimal ginjal.¹ Salah satu obat yang dapat menimbulkan kerusakan ginjal adalah parasetamol dengan dosis toksik. Parasetamol (*acetaminophen*) adalah salah satu obat analgesik-antipiretik yang paling umum digunakan di seluruh dunia.² Penggunaan parasetamol dosis toksik merupakan salah satu kasus paling sering ditemukan di Amerika Serikat. Pada tahun 2019 telah dilaporkan sebanyak 107.765 kasus yang 74.871 diantaranya adalah akibat pemakaian dalam sediaan tunggal, sedangkan 32.894 kasus dalam bentuk kombinasi dengan obat lain.³ Secara signifikan hepatotoksik yang disebabkan parasetamol dapat memicu terjadinya nefrotoksik. Insufisiensi ginjal dilaporkan terjadi pada 1-2% pada pasien yang mengkonsumsi parasetamol dosis toksik.⁴ Pada tahun 2016, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) menyebutkan, di Indonesia jumlah kasus keracunan obat sejak tahun 2016 yang dilaporkan ke sentra informasi keracunan BPOM adalah sebanyak 898 kasus.⁵ Pada tahun 2018, setidaknya di Indonesia terdapat 132 merek obat yang mengandung parasetamol sebagai salah satu komposisinya, dengan ketersediaan parasetamol yang banyak beserta kemudahan untuk mendapatkannya sehingga tidak heran parasetamol dapat disalah gunakan oleh masyarakat Indonesia.⁶

Parasetamol dimetabolisme melalui glukuronidasi dan sulfasi di hati. Sebanyak 55% parasetamol dioksidasi menjadi metabolit aktif yaitu *N-Acetyl-p-benzoquinone* (NAPQI) oleh enzim P450 mikrosomal. Normalnya NAPQI akan diikat oleh *glutathione intraseluler* (GSH) kemudian didetoksifikasi dari tubuh. Pada penggunaan dosis parasetamol yang berlebihan akan menyebabkan kadar

GSH sangat rendah dan peningkatan konsentrasi NAPQI yang cepat menyebabkan terganggunya metabolisme serta nekrosis sel hati. Kadar NAPQI yang meningkat menyebabkan aliran darah membawa zat tersebut menuju ginjal. Oleh karena itu selain menyebabkan kerusakan intraseluler diikuti nekrosis hati, NAPQI juga dapat menyebabkan kerusakan tubular akut yang merupakan salah satu penyebab utama gagal ginjal akut. Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serum dapat menjadi indikator nekrosis tubular akut yang disebabkan oleh parasetamol.⁴ Sebagian besar penelitian menggunakan dosis tunggal parasetamol kisaran 600 mg/kg hingga 2000 mg/kg yang diberikan secara oral atau intraperitoneal (IP) untuk menginduksi terjadinya toksisitas.^{4,7-8} nefrotoksitas juga dapat diinduksi dengan dosis yang lebih rendah kisaran 200 mg/kg hingga 500 mg/kg tetapi pemberian secara berulang.⁹⁻¹¹

Nigella sativa atau jintan hitam merupakan tanaman obat yang termasuk dalam famili *Ranunculaceae*. Diketahui bahwa Nabi Muhammad SAW dalam haditsnya yang diriwayatkan oleh Abdullah bin Muhammad bin Abi Syaibah Ibrahim bin 'Utsman menyatakan jintan hitam (*Habbatussauda*, *Nigella sativa*) mengandung semua jenis perbaikan kecuali kematian.¹² *Nigella sativa* adalah tanaman herbal yang sudah digunakan sebagai obat tradisional sejak 2000 tahun yang lalu dan memiliki potensi farmakologi yang luas seperti immunomodulator, analgetik, antimikroba, antiinflamasi dan spasmolitik. *Nigella sativa* juga sering digunakan sebagai obat untuk berbagai masalah kesehatan seperti sistem pernafasan, sistem pencernaan, fungsi ginjal dan hati, sistem kardiovaskular sistem imun dan penurunan kadar gula darah.^{4,13} *Nigella sativa* mengandung banyak komponen aktif terutama *thymoquinone* yang memiliki manfaat untuk mengatasi toksisitas yang disebabkan bahan kimia.¹⁴ Selain itu juga terdapat *thymohydroquinone*, *dithymoquinon*, *p-cymene*, *carvacrol*, *a-pinene*, *thymol*, *quercetin*, *kaempferol* dan *quercetin-3*.^{4,13} Berbagai penelitian telah membuktikan efek nefroprotektif minyak jintan hitam namun dosisnya bervariasi, dalam kisaran 1 ml/kgBB/hari sampai 5 ml/kgBB/hari. Percobaan pada pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 5 ml/kg memiliki efek pencegahan maksimal terhadap nefrotoksitas dengan hasil kadar BUN dan kreatinin serum ditemukan lebih

rendah jika dibandingkan pada pemberian pada dosis 1 ml/kgBB/hari.^{15,16} Namun pada penelitian lain, pemberian minyak jintan hitam dengan dosis yang lebih tinggi yaitu 25 ml/kg/hari pada tikus albino selama 1 bulan ditemukan kerusakan dari korteks ginjal tikus.¹⁷

Madu adalah cairan dengan berbagai manfaat yang disiapkan oleh lebah dari nektar berbagai tanaman. Madu sangat umum digunakan sebagai obat herbal di seluruh dunia untuk berbagai masalah kesehatan. Banyak penelitian mengungkapkan bahwa madu memiliki sifat antibakteri, antiinflamasi, nefroprotektif dan antioksidan yang sangat baik untuk melindungi dari radikal bebas.¹⁸ Hal ini menjadikan madu bukan hanya bernilai sebagai sumber nutrisi, tetapi juga sebagai obat dan dapat digunakan untuk kepentingan medis.¹⁹ Penelitian terdahulu yang menggunakan madu sebagai nefroprotektor dengan dosis yang berbeda-beda yaitu dosis 6,5% v/v selama 15 hari, dosis 1183 mg/kg selama 8 minggu, dosis 20 mg/kgBB dua kali sehari selama 10 minggu dan dosis 2 g/kgBB selama 8 minggu.¹⁹⁻²²

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji efektivitas nefroprotektor kombinasi minyak jintan hitam dan madu dengan dosis minyak jintan hitam 2 mL/kgBB/hari dan madu murni sidr Arab Saudi diperoleh dari Pegunungan Hadramaut, Yaman dosis 1 g/kgBB/hari yang dilarutkan dalam *distilled water* selama 4 minggu pada tikus yang diinduksi parasetamol memberikan efek nefroprotektor dengan adanya penurunan kadar BUN dan kreatinin serum tikus.²³ dan pada penelitian lain menyatakan bahwa kombinasi minyak jintan hitam dosis 2 mL/kgBB/hari dan madu trigona yang diperoleh dari Paloh, Sambas, Kalimantan Barat dosis 7,4 mL/kgBB/hari selama 21 hari pada tikus yang diinduksi cisplatin efektif dalam menurunkan level lipid peroksidase dengan adanya penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA) tikus.²⁴ Berdasarkan Perbedaan dosis dan perbedaan madu yang digunakan untuk dikombinasikan dengan minyak jintan hitam, kedua penelitian tersebut sama-sama mendapatkan hasil yang efektif terhadap nefroprotektor. Selain itu, berdasarkan hasil studi madu sidr dan madu trigona memiliki perbedaan yang nyata dimana madu sidr merupakan madu monoflora yang memiliki kualitas baik karena sudah memenuhi standarisasi dari

International Honey Commission (IHC) sedangkan madu trigona adalah madu multiflora. Madu ini belum masuk kualifikasi IHC karena memiliki kadar air yang tinggi. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin mengetahui apakah penggunaan madu trigona lebih efektif dibandingkan dengan madu sidr sebagai kombinasi minyak jintan hitam terhadap nefroprotektor tikus wistar yang diinduksi parasetamol.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah penggunaan madu trigona yang diperoleh dari Paloh, Sambas, Kalimantan Barat lebih efektif dibandingkan dengan madu sidr Arab Saudi yang diperoleh dari Pegunungan Hadramaut, Yaman. Sebagai kombinasi minyak jintan hitam terhadap nefroprotektor tikus wistar yang diinduksi parasetamol.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah penggunaan madu trigona lebih efektif dibandingkan dengan madu sidr Sebagai kombinasi minyak jintan hitam terhadap nefroprotektor tikus wistar yang diinduksi parasetamol.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui efek nefroprotektor kombinasi antara minyak jintan hitam dan madu trigona pada tikus wistar yang diinduksi parasetamol.
- b. Untuk mengetahui efek nefroprotektor kombinasi antara minyak jintan hitam dan madu sidr pada tikus wistar yang diinduksi parasetamol.
- c. Untuk mengetahui nilai BUN dan kreatinin serum pada masing-masing tikus yang diberi perlakuan.

1.4 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan wawasan mengenai pengaruh kombinasi minyak jintan hitam dan madu terhadap fungsi ginjal tikus wistar yang diinduksi parasetamol. Dan diharapkan dapat

menggunakan dosis kombinasi yang optimal serta jenis madu yang tepat. Selain itu dengan adanya penelitian ini juga diharapkan minyak jintan hitam dan madu dapat dimanfaatkan sebagai pengembangan obat alami, khususnya madu dari Indonesia, sebagai produk herbal yang perlu dikembangkan, dengan harga yang lebih murah dan terjangkau oleh masyarakat luas.

1.5 Hipotesis

Ha : Pemberian kombinasi minyak jintan hitam dan madu trigona lebih efektif dibandingkan dengan pemberian minyak jintan hitam dan madu sidr sebagai nefroprotektor pada tikus wistar yang diinduksi parasetamol.

H0 : Pemberian kombinasi minyak jintan hitam dan madu trigona tidak lebih efektif dibandingkan dengan pemberian minyak jintan hitam dan madu sidr sebagai nefroprotektor pada tikus wistar yang diinduksi parasetamol.

BAB 2

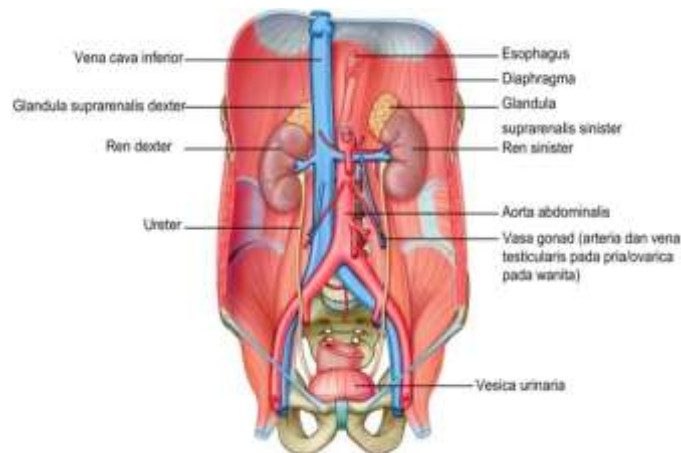
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ginjal

2.1.1 Anatomi Ginjal

Ginjal (*ren, nephros*) merupakan bagian dari *systema urinaria* yang terletak di dalam ruangan retroperitoneum. Kedua ginjal berwarna coklat kemerahan dan mempunyai facies anterior dan facies posterior, margo medialis dan margo lateralis, serta polus superior dan polus inferior.²⁵ Pada margo medialis, terdapat celah vertikal yang dibatasi oleh pinggir-pinggir substansi ginjal yang tebal dan disebut hilus renalis. Hilus renalis meluas ke rongga yang besar disebut sinus renalis. Hilus renalis dilalui dari depan ke belakang oleh vena renalis, dua cabang arteri renalis, ureter dan cabang ketiga vena renalis.²⁶

Ginjal kanan dan kiri berbentuk seperti kacang, ukuran ginjal dapat bervariasi dengan panjang ginjal sekitar 10-12 cm, lebar 5 cm dan tebal 2,5 cm.²⁷ Ginjal kiri biasanya lebih besar dan panjang dibandingkan ginjal kanan.²⁵ Ginjal kanan terletak sedikit lebih rendah dibandingkan ginjal kiri, karena adanya lobus hepatis kanan yang besar.²⁶

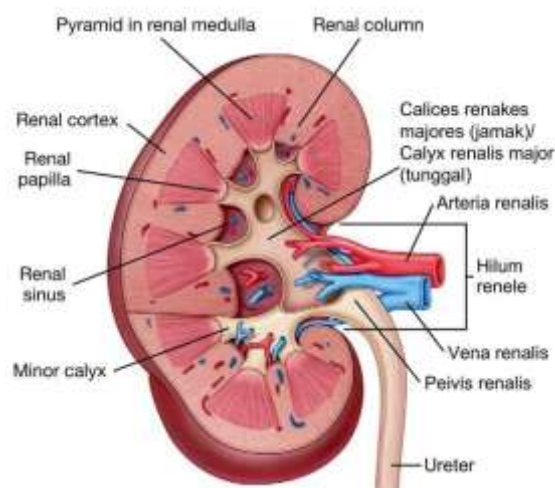


Gambar 2.1 Letak Ginjal²⁸

Masing-masing ginjal mempunyai korteks renalis di bagian luar, yang berwarna coklat gelap dan medula renalis di bagian dalam yang lebih terang. Medula renalis manusia terdiri atas 8 sampai 15 struktur kerucut yang disebut

piramida renal, semua dengan dasar yang bertemu korteks (di pertemuan kortiko medularis) dan terpisah satu sama lain oleh perluasan korteks yang disebut kolumna renalis. Sinus renalis merupakan ruangan di dalam hilus renalis, berisi pelebaran ke atas dari ureter disebut pelvis renalis. Pelvis renalis terbagi menjadi dua atau tiga calices renalis majores yang masing-masing akan bercabang menjadi dua atau tiga calices renales minores. Setiap calyx minor diinvaginasi oleh apex piramidis renalis yang disebut papilla renalis.²⁶

Aliran darah pada ginjal berasal dari arteri renalis yang berasal dari aorta abdominalis yang dipercabangkan setinggi vertebrae lumbales II. Setiap arteri renalis akan bercabang menjadi lima percabangan arteri segmentalis di dekat hilum renalis. Vena renalis terdapat dalam sinus renalis. Pada daerah hilum renale, vena renalis terletak di sebelah depan, ureter dibelakang dan arteri renalis terletak diantaranya. Vena renalis keluar dari hilus dan bermuara ke vena cava inferior. Sistem pada arteri ginjal adalah *end arteries* yang berarti arteri yang tidak mempunyai anastomosis dengan cabang-cabang dari arteri lain, sehingga bila terdapat kerusakan pada salah satu cabang arteri ini, dapat menyebabkan timbulnya iskemia/nekrosis pada daerah yang diperdarahinya.²⁶



Gambar 2.2 Bagian-bagian dari Ginjal²⁸

2.1.2 Fisiologi Ginjal

Ginjal bekerja sama dengan masukan hormon dan saraf yang mengontrol fungsinya. Ginjal adalah organ yang terutama berperan dalam mempertahankan stabilitas volume, komposisi elektrolit dan osmolaritas (konsentrasi solut) cairan ekstraseluler. Dengan menyesuaikan jumlah air dan berbagai konstituen plasma yang dipertahankan di tubuh atau dikeluarkan di urin, ginjal dapat mempertahankan keseimbangan air dan elektrolit dalam kisaran yang sangat sempit yang memungkinkan kehidupan, meskipun pemasukan dan pengeluaran konstituen-konstituen ini melalui cara lain sangat bervariasi.²⁹ Semua fungsi utama ginjal yaitu pembuangan limbah metabolik dan kelebihan air dan elektrolit dari darah dilakukan oleh berbagai sel epitel khusus nefron dan sistem koligens. Fungsi ginjal mencakup tiga aktivitas spesifik:

1. Filtrasi, yaitu proses masuknya air dan bahan terlarut dalam darah meninggalkan celah vaskular dan memasuki lumen nefron.
2. Sekresi tubular, yaitu proses perpindahan substansi dari sel epitel tubulus ke dalam lumen, biasanya terjadi setelah penyerapan substansi dari interstisium sekitar dan kapiler.
3. Reabsorpsi tubular, yaitu proses perpindahan substansi dari lumen tubular menembus epitel ke dalam interstisium dan kapiler sekitar.³⁰

Selain peran regulatorik penting ginjal dalam mempertahankan keseimbangan cairan dan elektrolit, ginjal juga merupakan rute utama untuk mengeluarkan bahan-bahan sisa metabolik yang berpotensi toksik dan senyawa asing dari tubuh. Urea, kreatinin, bilirubin dan asam urat dari protein, otot, metabolisme hemoglobin dan asam nukleat, semuanya diekskresikan melalui urin. Bahan sisa ini tidak dapat dikeluarkan sebagai zat padat. Bahan-bahan tersebut harus dikeluarkan dalam bentuk larutan sehingga ginjal wajib menghasilkan paling sedikit 500 ml urin berisi bahan sisa per harinya.²⁹

2.2 Paracetamol

2.2.1 Definisi dan Fungsi Parasetamol

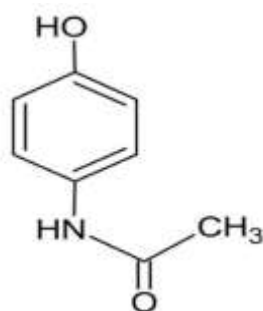
Parasetamol (asetaminofen) adalah salah satu obat analgetik-antipiretik yang paling banyak digunakan secara umum di seluruh dunia, dan di sebagian besar negara obat ini tersedia tanpa resep.⁴ Parasetamol merupakan metabolit fenasetin dengan efek antipiretik yang telah digunakan sejak tahun 1893. Efek antipiretik ditimbulkan oleh gugus aminobenzen.³¹

2.2.2 Dosis Terapi Parasetamol

Dosis parasetamol per oral untuk dewasa 500 mg sampai 1 g per kali setiap 4-6 jam dengan dosis maksimum 4 g per hari. Untuk anak 6-12 tahun: 150-300 mg/hari dengan dosis maksimum 1,2 g/hari. Untuk anak 1-6 tahun: 60-120 mg/kali dan bayi dibawah 1 tahun: 60 mg/kali pada keduanya diberikan maksimum 6 kali sehari. Penggunaan parasetamol pada anak membutuhkan perhatian khusus dan pemberian dosis yang adekuat (berdasarkan usia) yang berbeda secara signifikan dari standar orang dewasa.³²

2.2.3 Struktur kimia Parasetamol

Parasetamol (nama internasional yang digunakan di eropa) dan asetaminofen (nama internasional digunakan di AS) adalah dua nama resmi yang sama senyawa kimia yang berasal dari nama kimianya: *N-acetyl-para-aminophenol* (segmen “cet” dimasukkan di antara “para” dan “amino”).³³



Gambar 2.3 Struktur Kimia Parasetamol³³

2.2.4 Farmakokinetik dan Metabolisme Parasetamol

Parasetamol diabsorpsi cepat dan sempurna melalui saluran cerna. Konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu setengah jam dan masa paruh plasma antara 1-3 jam.³¹ Ikatan obat dengan protein plasma lebih kecil daripada NSAID lain. Sekitar 90-100% obat ini ditemukan didalam urin pada hari pertama pada dosis terapeutik, terutama pada konjugasi hepatic dengan asam glukoronat, asam sulfat atau sistein. Sebagian kecil asetaminofen mengalami N-hidroksilasi yang diperantarai oleh CYP450 menjadi bentuk *N-asetil-p-benzoquinoneimine* (NAPQI).³⁴ Pada dosis terapi, NAPQI terkonjugasi dengan *glutathione* dan tidak aktif.³²

2.2.5 Farmakodinamik Parasetamol

Efek analgesik parasetamol serupa dengan salisilat yaitu mengurangi atau menghilangkan nyeri ringan sampai sedang. Parasetamol dapat menurunkan suhu tubuh dengan mekanisme yang diduga juga berdasarkan efek sentral seperti salisilat. Efek anti-inflamasinya sangat lemah. Parasetamol merupakan penghambat biosintesis prostaglandin yang lemah.³¹

2.2.6 Pengaruh Parasetamol Dosis Toksik terhadap Kerusakan Ginjal

Parasetamol sebagai penginduksi terjadinya nefrotoksisitas dapat menggabungkan beberapa jalur molekuler apoptosis termasuk pengangkatan molekuler protektif intraseluler dan aktivasi kaspase. Meskipun parasetamol tidak mengubah ekspresi mRNA (*messenger-Ribosa Nucleic Acid*) pada gen Bcl-xL antiapoptotik, namun dapat menurunkan protein Bcl-xL yang berarti dapat meningkatkan aktivitas apoptosis. Parasetamol juga menginduksi stress retikulum endoplasma dan glomerulus ginjal yang menyebabkan stres oksidatif dan inflamasi pada sel podosit serta mesangial glomerulus. Senyawa *ROS* (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan hasil dari metabolisme parasetamol juga dapat menyebabkan kerusakan glomerulus yang dimulai dengan infiltrasi leukosit. Salah satu efek merugikan overdosis parasetamol adalah nekrosis tubular ginjal.

Toksisitas utama dari parasetamol adalah hasil dari metabolisme di hati dan jaringan ekstrahepatik. Dalam rentang dosis terapi, ada tiga mekanisme metabolisme parasetamol di hepar oleh hepatosit yaitu melalui mekanisme metabolisme *glucuronidation* dikatalisasi oleh enzim UGTs (UDP glucuronosyltransferase) menjadi APAP (acetyl-para-aminophenol)-gluc (52%-57%). Kemudian melalui mekanisme *sulfation* oleh sulfotransferase menjadi APAP sulfate (APAP-SO₄) sekitar 30%-40%, kedua metabolit tersebut terbentuk di hepatosit lalu diekskresikan melalui urin. Dan sekitar 5%-10% APAP dioksidasi oleh enzim P450 mikrosomal hati menjadi metabolit aktif, *N-asetil-p-benzoquinoneimine* (NAPQI) diekskresikan melalui urin dan kurang dari 5% diekskresikan dalam bentuk tidak berubah.³³ Di dalam ginjal aktivitas terbesar sistem sitokrom P450 ditemukan di korteks ginjal, dan terutama di tubulus proksimal dan hanya sedikit di glomerulus, tubulus distal dan duktus koligens. Di sisi lain, karena aktivitas penyerapan dan sekresi di tubulus proksimal karena aktivitas metabolisme intensif di dalamnya.⁸

Ada beberapa mekanisme potensial toksisitas ginjal yaitu mekanisme yang mendasari melibatkan jalur sitokrom P450, *enzym prostaglandin synthase* dan *N-acetylglucosamine deacetylase*. Yang paling memungkinkan mekanisme nefrotoksisitas yang diinduksi APAP melibatkan metabolit toksik reaktif NAPQI yang dibentuk oleh aktivasi sitokrom P450. Metabolit pengoksidasi NAPQI menjadi sasaran reduksi satu elektron dan kemudian dioksidasi ulang selama metabolisme sel dan proses ini digabungkan dengan pembentukan superoksida. Dengan dosis terapi APAP, jumlah NAPQI yang terbentuk relatif kecil, dan NAPQI yang terbentuk akan didetoksifikasi oleh ikatan secara kovalen dengan *glutathione* (GSH) *antioksidative* dan *anti apoptotic effect*. Di samping itu, overdosis APAP akan menyebabkan akumulasi NAPQI yang berlebihan mengakibatkan kehilangan GSH seluler, NAPQI juga menstimulasi pembentukan molekul ROS yang akan bereaksi dengan protein seluler serta memicu peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan mekanisme penting dalam proses kerusakan sel pada suatu organ oleh parasetamol. Peningkatan peroksidasi lipid ditandai dengan

naiknya kadar MDA yang merupakan senyawa penanda stres oksidatif yang selanjutnya menyebabkan cedera ginjal.⁴

N-deacetylase mengoksidasi parasetamol menjadi acetyl-para-aminophenol (APAP) suatu metabolit utama parasetamol dalam urin. APAP mengalami autooksidatif menjadi p-benzoquinone (PBQI) suatu metabolit sangat reaktif. PBQI berikatan dengan GSH menimbulkan sitotoksik merusak tubulus proksimal renal. APAP juga berdifusi dengan cara transpor pasif ke dalam sel tubulus menimbulkan efek nefrotoksik.³⁵ nefrotoksisitas yang disebabkan oleh APAP juga dapat dilihat dengan peningkatan BUN dan kreatinin serum yang digunakan sebagai tanda kerusakan tubulus ginjal yang merupakan salah satu penyebab utama gagal ginjal akut.⁴

2.3 Jintan Hitam

Jintan hitam (*Habbatussauda, N. sativa*) disingkat NS adalah tanaman kecil (setinggi 20 hingga 90cm) yang mempunyai daun hijau lentik dan bunga putih, kuning, merah muda, biru pucat atau keunguan dengan 5 sampai 10 kelopak. Buah matang dari jintan hitam (kapsul:3-7 folikel bersatu) mengandung banyak biji kecil jintan hitam berwarna hitam pekat.³⁶ Biji jintan hitam termasuk golongan biji berkeping dua (*dicotyledoneae*). Biji berbentuk lonjong yang memiliki panjang 2,5-3,5 mm dan lebar 1,5-2 mm. Tanaman ini memiliki batang berwarna hijau, bulat, berbulu dengan diameter 2-5mm.³⁷ bentuk daunnya bulat telur berujung lancip. Di bagian permukaan daunnya terdapat bulu halus. Daunnya kadang-kadang tunggal atau bisa juga majemuk dengan posisi tersebar atau berhadapan.³⁶

Jintan hitam (*Nigella sativa*) berdasarkan taksonominya diklasifikasikan sebagai berikut:³⁶

Kingdom : *Plantae*
 Subkingdom : *Traceablonta*
 Divisi : *Spermatophyta*
 Subdivisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida dicotyledon*
 Subkelas : *Magnoliidae*
 Ordo : *Ranunculales*
 Famili : *Ranunculaceae*
 Genus : *Nigella Linn*
 Spesies : *Nigella Sativa Linn*



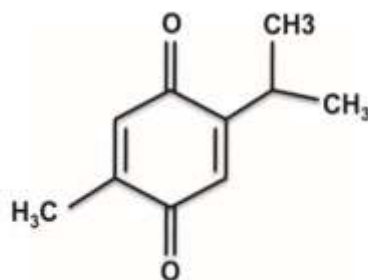
Gambar 2.4 (A) Tumbuhan *N. sativa*, (B) Bunga, (C) Kapsul Buah, (D) Biji³⁸

Jintan hitam adalah tanaman berbunga tahunan dari *famili Ranunculaceae* dan merupakan tanaman asli Eropa Selatan, Afrika Utara dan Asia Barat Daya. Jintan hitam memiliki rasa dan aroma pahit yang menyengat digunakan sebagai bumbu masakan India dan Timur Tengah.³⁹

Indonesia yang beriklim tropis umumnya mempunyai suhu, kelembaban dan curah hujan yang lebih tinggi dengan keasaman tanah yang rendah, sehingga tanaman jintan hitam memerlukan adaptasi di lingkungan tumbuh yang baru. Telah dilakukan penelitian terhadap pertumbuhan dan produksi jintan hitam di tiga ketinggian wilayah tropika Indonesia pada bulan Juni sampai Oktober tahun 2015. Hasil penelitian yang telah lakukan memperlihatkan jintan hitam dapat

tumbuh dan berproduksi di dataran rendah dan menengah tropika Indonesia.⁴⁰ Untuk mendapatkan jintan hitam di Indonesia telah banyak produk yang dijual dalam bentuk serbuk dan minyak yang dikemas dalam kapsul. Jintan hitam memiliki sejarah panjang dalam cerita rakyat peradaban India dan Arab sebagai makanan dan obat-obatan. Jintan hitam telah banyak digunakan sebagai pengobatan karena memiliki potensi terapeutik dan memiliki spektrum yang luas yaitu diuretik, antihipertensi, antidiabetes, antikanker, imun-modulator, antimikroba, antelmintik, analgesik dan antiinflamasi, spasmolitik, bronkodilator, sifat perlindungan gastroprotektif, hepatoprotektif dan nefroprotektif.³⁹

Jintan hitam mengandung protein (26,7%), lemak (28,5%), karbohidrat (24,9%), serat kasar (8,4%). Jintan hitam juga mengandung banyak vitamin dan mineral seperti Cu, P, Zn dan Fe. Senyawa aktif paling penting dari jintan hitam adalah thymoquinone (TQ) (30-48%), thymohydroquinone, dithymoquinone, p-cymene (7%-15%), carvacrol (6%-12%), 4-terpineol (2%-7%), t-anethole (1%-4%), sesquiterpene longifolene (1%-8%), α -piene dan timol. Jintan hitam juga mengandung senyawa lain seperti carvone, limonene, citronellol dan dua jenis alkaloid yaitu isoquinoline alkaloid (mis. Nigellimine dan Nigellimine-N-oxide) dan pirazol alkaloid (mis. Nigellidine dan nigellicine). Sifat farmakologis dari jintan hitam terutama disebabkan oleh konstituen kina, TQ menjadi yang paling berperan. Jintan hitam mengandung minyak lemak yang kaya akan asam lemak tak jenuh, yang merupakan asam linoleat (50%-60%), asam oleat (20%), asam eicosadienoic (3%) dan asam dihomolinoleat (10%), dan asam lemak jenuh (palmitat dan asam stearat) hingga 30%.³⁹



Gambar 2.5 Thymoquinone⁴¹

Jintan hitam diketahui memiliki efek renoprotektif karena sifat anti-inflamasi dan antioksidannya. Efek ini dikaitkan dengan bahan aktif thymoquinon (TQ). Thymoquinon mempunyai efek perbaikan terhadap senyawa depleksi *gluthatione*, meingkatkan *gluthatione* serum dan konsentrasi *Total Antioksidant Status* (TAS). Satu literatur menyebutkan bahwa SOD (*superoksida dismutase*), GSH (*gluthatione*) dan MDA (*malondialdehid*) adalah indikator penting dari antioksidan tubuh yang memberikan perlindungan terhadap kerusakan disebabkan oleh stres oksidatif. Penelitian sebelumnya telah menyelidiki pada pemberian parasetamol oral menyebabkan nefrotoksisitas dengan terjadi peningkatan MDA jaringan dan penurunan GSH jaringan dan aktivitas SOD sebagai tanda proses stres oksidatif. Penurunan GSH dan SOD yang signifikan menyebabkan peningkatan lipid peroksidasi. Ini memainkan peran penting dalam pertahanan sistem antioksidan dan menghilangkan radikal bebas seperti hidrogen radikal peroksida dan mempertahankan tiol protein membran.⁴

2.4 Farmakokinetik Thymoquinone

Thymoquinone (*2-isopropyl-5-methyl-1, 4-benzoquinone*) adalah senyawa aktif yang paling banyak terdapat dalam tanaman *Nigella sativa*.⁴² *Thymoquinone* merupakan molekul yang memiliki sifat hidrofobisitas yang tinggi sehingga menyebabkan sulit dilarutkan dalam media air.⁴³ *Thymoquinone* di absorpsi melalui saluran cerna. Pada pemberian oral konsentrasi tertinggi *thymoquinone* dalam plasma dicapai dalam waktu 2 jam dan masa paruh plasma antara 3-5 jam.⁴²

2.5 Madu



Gambar 2.6 Madu⁴⁴

Madu adalah zat alami yang dihasilkan lebah dari madu atau nektar bunga mekar baik unifloral (nektar dari bunga yang sama) atau multifloral (nektar dari berbagai jenis bunga). Madu juga merupakan sumber makronutrien dan mikronutrien penting. Terdiri dari Karbohidrat, monosakarida dan disakarida (95%), protein dalam jumlah sedikit dalam bentuk enzim dan asam amino. Prolin adalah asam amino utama dalam madu (50-85%), Asam amino lainnya adalah alanin, fenilalanin, tirosin, asam glutamat, isoleusin, dan leusin. Dalam madu juga terdapat sejumlah mineral esensial yang bervariasi (0,2%), di antaranya yaitu kalium, kalsium, tembaga, besi, magnesium, mangan, fosfor, natrium, seng, dan selenium. Madu juga mengandung vitamin, seperti asam askorbat (C), tiamin (B1), riboflavin (B2), niasin (B3), asam pantotenat (B5), dan piridoksin (B6). Sebagian protein yang ada dalam madu pada dasarnya terdiri dari enzim yang berasal dari serbuk sari, nektar, dan lebah. Enzim utama adalah *diastase*, *glukosa oksidase*, dan *invertase*. *Diastase* adalah enzim amilolitik, seperti *amilase* yang menghidrolisis rantai pati yang menghasilkan dekstrin. *Glukosa oksidase* mengubah glukosa menjadi glukonolakton yang dihidrolisis menjadi asam glukonat yang merupakan asam utama dalam madu dan hidrogen peroksida (H_2O_2), enzim *invertase* menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Madu tidak hanya dianggap sebagai makanan atau pemanis, tetapi juga digunakan sebagai obat untuk merangsang penyembuhan luka, regenerasi jaringan, dan meringankan gangguan pencernaan, radang gusi, dan berbagai patologi lainnya. Efek terapeutik madu dihasilkan dari adanya berbagai molekul antioksidan, termasuk senyawa fenolik, seperti flavonoid dan asam fenolik.⁴⁴



Gambar 2.7 Asam Fenolik dan Flavonoid Madu⁴⁴

Flavonoid yang terdapat dalam madu adalah apigenin, genistein, pinocembrin, chrysin, quercetin, luteolin, galangin, dan pinobanksin sedangkan asam fenolik dalam madu meliputi 4-(Dimethylamino) benzoic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, gallic acid, vallinic acid, syringic asam, dan asam klorogenat.⁴⁴ Senyawa ini bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan madu dengan bertindak sebagai penangkal radikal bebas, melalui pembentukan molekul yang lebih stabil. Secara umum, senyawa fenolik berperan sebagai antioksidan melalui beberapa mekanisme. Antioksidan adalah agen untuk melawan kerusakan yang disebabkan oleh oksidan seperti O₂, OH⁻, superoksida, dan radikal lipid peroksil. Kanker, sintesis mutagen, degeneratif, aterosklerosis, dan banyak penyakit kronis yang rentan terhadap stres oksidatif. Gugus hidroksil fenolik dapat memutus siklus pembentukan radikal bebas baru dengan menyumbangkan hidrogen yang bereaksi dengan oksigen reaktif dan spesies nitrogen reaktif dalam reaksi terminasi.⁴⁵ Fenolik dapat menghambat beberapa enzim yang terlibat dalam pembentukan radikal, seperti berbagai isoform sitokrom P450, lipoksigenase, siklooksigenase, dan xantin oksidase. Selain itu, asam askorbat, tokoferol, karotenoid, dan enzim lain (*katalase, glukosa oksidase, dan peroksidase*) yang ditemukan dalam madu juga dikaitkan dengan kapasitas antioksidannya. Vitamin E (*α-tokoferol*) adalah antioksidan larut lemak yang efisien dan berfungsi sebagai pemutus rantai selama peroksidasi lipid dalam membran sel dan berbagai partikel lipid termasuk lipoprotein densitas rendah (LDL). Sedangkan asam askorbat adalah penangkal radikal bebas yang larut dalam air. Asam askorbat dapat meregenerasi vitamin E dalam membran sel dalam kombinasi dengan GSH. Karotenoid adalah salah satu fitonutrien larut lemak yang paling umum. Karotenoid diketahui memainkan peran penting dalam perlindungan membran seluler dan lipoprotein terhadap ROS karena aktivitas penangkapan radikal peroksilnya.²⁴

Madu memiliki efek antiinflamasi. Inflamasi adalah respons biologis yang rumit dari jaringan vaskular yang merupakan respon terhadap adanya kerusakan. inflamasi diklasifikasikan menjadi dua yaitu; peradangan akut dan kronis. Peradangan akut adalah reaksi awal tubuh terhadap rangsangan. Indikasi peradangan akut adalah kemerahan, nyeri, gatal, dan hilangnya kemampuan untuk

melakukan fungsi. Jika peradangan akut tidak ditangani dengan baik dan berkepanjangan akan berubah menjadi peradangan kronis. Beberapa faktor dapat terlibat dalam respon proinflamasi seperti sitokin, siklooksigenase (COX), lipoksigenase (LOX), mitogen, makrofag, faktor TNF, dan banyak faktor jalur inflamasi lainnya. Dalam proses inflamasi, dua komponennya yang diaktifkan pada suatu penyakit yaitu jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK) dan nuclear factor kappa B (NF- κ B). Aktivasi MAPK dan NF- κ B akhirnya akan menghasilkan mediator inflamasi lainnya, enzim, sitokin, protein, dan gen seperti siklooksigenase-2 (COX-2), lipoxygenase 2 (LOX-2), protein C-reaktif (CRP), interleukin (IL-1, IL-6, dan IL-10), dan TNF- α . Madu berfungsi sebagai menurunkan kadar sitokin proinflamasi plasma seperti IL-6, TNF- α , PGE₂, NO, iNOS, dan COX-2. Madu juga dapat menghambat translokasi NF- κ B ke inti sel dan menekan degradasi I κ B α (*inhibitor nf kappa B*). Asam fenolik dan flavonoid dapat menekan aktivitas enzim proinflamasi, misalnya, cyclooxygenase-2 (COX-2), prostaglandin, dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS). Flavonoid pada madu memperlambat ekspresi MMP-9 (*matrix metalloproteinase 9*) sebuah mediator inflamasi yang menyebabkan inflamasi kronis. Madu memiliki kemampuan untuk menghambat ekspresi sitokin antiinflamasi seperti IL-1 dan IL-10 dan faktor pertumbuhan PDGF (*platelet derived growth factor*) dan TGF- β (*transforming growth factor β*). Mekanisme lain yang mungkin menunjukkan bahwa ROS diproduksi oleh makrofag, monosit, dan neutrofil yang meningkatkan peradangan. Madu dapat menghentikan pelepasan sel tersebut untuk meningkatkan efek antiinflamasi, hal ini juga menghambat produksi keratinosit dan leukosit untuk mengurangi peradangan. Produksi H₂O₂ dalam madu merangsang pertumbuhan fibroblas dan sel epitel untuk memperbaiki kerusakan akibat inflamasi.⁴⁵

2.5.1 Madu Trigona

Madu trigona adalah madu jenis multifloral yang merupakan produk dari lebah trigona (*Trigona sp.*).⁴⁶ Lebah *Trigona sp* merupakan sekelompok besar lebah jenis stingless bee yang hidup berkelompok, membentuk koloni dan tersebar

di daerah tropis di seluruh dunia.⁴⁷ Madu trigona memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi.⁴⁶ Dari hasil studi membuktikan bahwa madu trigona memiliki efek antimikroba, antikanker dan antidiabetes yang lebih baik dibandingkan madu yang dihasilkan genus *Apis*. Secara kuantitatif madu trigona mempunyai kadar air yang tinggi akan tetapi kadar total karbohidrat dan kadar gulanya sedikit lebih rendah. berbeda dengan madu yang dihasilkan oleh genus *Apis* yang memiliki campuran rasa manis dan asam, aroma khusus dan warna yang lebih cerah.⁴⁷ Madu trigona memiliki sifat fisikokimia dengan kandungan air 30,80-33,67%, pH 3,05-4,55, kandungan pereduksi gula pada madu trigona 55-86%, glukosa 8,20-30,98, fruktosa 31,11-40,20, sukrosa 0,31-1,26% %, tidak dijumpai maltosa, *electrical conductivity* 0,49-9,77mS/cm, *Hydroxymethylfurfural* 8,80-69mg/kg, dan *ash content* 0,01-0,12. Dan terdapat vitamin A, vitamin C, vitamin E, kalsium, magnesium dan zink.^{48,49}

2.5.2 Madu Sidr

Madu Sidr adalah madu monoflora yang dihasilkan oleh lebah *Apis mellifera* dari nektar bunga dan buah pohon Sidr (*Ziziphus spp*). Madu Sidr biasa ditemukan di area gurun pasir Yaman, Arab Saudi dan Pakistan. Dari hasil studi madu Sidr memiliki kemampuan sebagai antimikroba, imunomodulator dan antikanker terhadap sel HepG2. Madu Sidr memiliki sifat fisikokimia dengan kandungan air 14,52-19,16%, pH 4,47-4,58, berat jenis 1,44-1,49, fruktosa 38,67-40,16%, glukosa 26,88-30,25%, maltosa 1,85-3,29%, tidak dijumpai sukrosa, *Hydroxymethylfurfural* 3,85-4,55 mg/kg, *electrical conductivity* 1,79 mS/cm. Aktivitas antioksidan (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 91,64% serta vitamin larut air seperti vitamin B3, vitamin B6, vitamin B12 dan asam askorbat.^{49,50}

Variasi karakteristik madu berbeda-beda komposisi sesuai dengan geografis dan asal botaninya. Komponen madu bergantung pada sumber nektar serta kondisi regional dan iklim. Kandungan tertentu yang telah diusulkan sebagai kriteria untuk mengetahui kualitas madu oleh komisi madu internasional (IHC) yaitu dinilai dari kadar air, konduktivitas listrik, gula pereduksi (fruktosa dan glukosa),

kandungan sukrosa, *free acidity*, kandungan abu, aktivitas diastase dan invertase, kandungan *Hydroxymethylfurfural*, kandungan prolin dan berat jenis.^{50,51}

2.6 Farmakokinetik dan Metabolisme Flavonoid

Flavonoid memiliki konsentrasi tertinggi dalam plasma dicapai dalam waktu 1-3 jam dan masa paruh plasma antara 4-6 jam.⁵² Di lumen usus kecil, glikosida flavonoid dihidrolisis oleh *lactase phlorizin hidrolase* (LPH, laktase) menjadi aglikon. Aglikon dapat memasuki sel epitel dengan cara pasif yaitu berdifusi atau glikosida dapat langsung diangkut ke dalam epitel melalui transporter epitel seperti sodium-dependent glucose. Setelah proses absorpsi, flavonoid dapat mengalami metabolisme fase I di hati (oksidasi atau O-demetilasi) oleh sitokrom P450 monooksigenase. Produk oksidasi yang dihasilkan dari metabolisme fase I cenderung merupakan metabolit minor dari sebagian besar flavonoid yang disebabkan oleh proses glukuronidasi, sulfasi, atau metilasi yang terjadi secara cepat di usus dan hati. Kemudian memasuki metabolisme fase II yaitu oleh enzim urine-5-difosfat glucuronosyltransferases (UGTs), sulfotransferases, dan katekol-O-metiltransferase (COMT) diubah menjadi Glukuronida konjugat sulfat dan metil yang merupakan metabolit lebih polar dan dapat diekskresikan melalui ginjal dalam urin atau melalui empedu atau diangkut kembali oleh ABC-mediated efflux kembali ke lumen usus.⁵³

2.7 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron tidak berpasangan, oleh karena itu bersifat reaktif dan tidak stabil. Fungsi radikal bebas dalam tubuh adalah melawan radang, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah. Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam tubuh (endogen) dan berasal dari luar tubuh (eksogen). Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi, reaksi antara besi dan logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantin oksidase, peroksisom maupun pada

kondisi iskemia. Sedangkan radikal oksigen ialah sumber radikal bebas yang berasal dari bermacam-macam sumber diantaranya adalah polutan, berbagai makanan dan minuman, radiasi, ozon dan pestisida. Radikal bebas dapat timbul melalui beberapa mekanisme yaitu otooksidasi, aktivitas oksidasi misalnya siklooksigenase, lipooksigenase, dehidrogenase dan peroksidase serta sistem transpor elektron.

Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel dengan tiga cara yaitu:

1. Peroksidasi komponen lipid dari membran sel dan sitosol, menyebabkan serangkaian reduksi asam lemak (otokatalisasi) yang mengakibatkan kerusakan membran dan organel sel.
2. Kerusakan DNA, mengakibatkan mutasi DNA bahkan dapat menimbulkan kematian sel.
3. Modifikasi protein teroksidasi karena terbentuknya *cross linking* protein melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti sisten, metionin, lisin dan histidin.⁵⁴

2.8 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam artian khusus antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidatif radikal bebas dalam oksidasi lipid. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan fungsinya sistem imunitas tubuh. Antioksidan dibagi menjadi dua pengelompokan yaitu antioksidan enzimatis seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Serta antioksidan non enzimatis dibagi menjadi dua kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak dan antioksidan larut air. Antioksidan larut lemak seperti tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinone dan bilirubin sedangkan antioksidan larut air seperti asam askorbat, dan protein pengikat logam.

Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, antioksidan dibagi menjadi tiga, yaitu:

1. Antioksidan primer, bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan primer bersifat memutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang bisa bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Contoh antioksidan primer adalah SOD, *Gluthation Peroksidase* (GPx), katalase dan protein pengikat logam.
2. Antioksidan sekunder, bekerja dengan cara mengikat logam yang bertindak sebagai prooksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan sekunder berperan sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap oksigen, pengurai hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, penyerap radiasi UV atau deaktivasi singlet oksigen.
3. Antioksidan tersier, bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Contoh antioksidan alami adalah fenolik, vitamin A, vitamin B, vitamin C, vitamin E, karotenoid, seng, tembaga, selenium dan protein. Sedangkan beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya secara luas adalah *Butylated Hidroxyquinon* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT), *tert-Butylated Hydroquinone* (TBHQ) dan tokoferol.⁵⁴

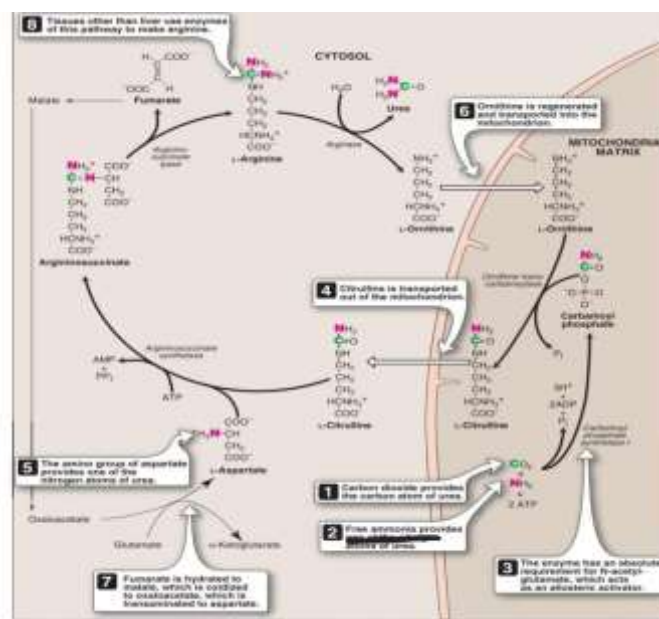
2.9 Prinsip Spektrofotometer

Spektrofotometer mengukur jumlah relatif cahaya dari panjang gelombang berbeda yang diserap dan diteruskan oleh larutan pigmen. Di dalam spektrofotometer, cahaya putih dipisahkan menjadi sejumlah warna (panjang

gelombang) oleh prisma. Kemudian, satu demi satu, warna cahaya yang berbeda itu dilewatkan melalui sampel. Cahaya yang diteruskan menabrak tabung fotolistrik, yang mengubah energi cahaya menjadi listrik, dan arus listriknya diukur dengan suatu alat ukur. Setiap kali panjang gelombang cahaya berubah, alat ukur akan mengindikasikan fraksi cahaya yang diserap. Grafik yang menyajikan profil penyerapan (absorpsi) pada panjang gelombang yang berbeda disebut spektrum absorpsi.⁵⁵

2.10 Blood Urea Nitrogen (BUN)

Urea berasal dari produk akhir katabolisme protein (asam amino) yang terbentuk melalui siklus urea di dalam hati yang diekskresikan oleh ginjal. Urea yang telah disintesis akan ditransfer ke dalam plasma untuk selanjutnya terfiltrasi oleh glomerulus ginjal dan direabsorpsi sebanyak 25-40% di tubulus proksimal, kemudian diekskresikan dalam urin.⁵⁶ pada individu dengan pola makan tinggi protein, kadar urea dapat berada di atas rentang normal (naik hingga 10-50 mg/dL). Pemeriksaan kadar urea serum penting dan diperlukan untuk mengetahui kondisi fisiologis ginjal.^{57,58} Pada pasien gagal ginjal, kadar urea di dalam plasma meningkat.⁵⁹

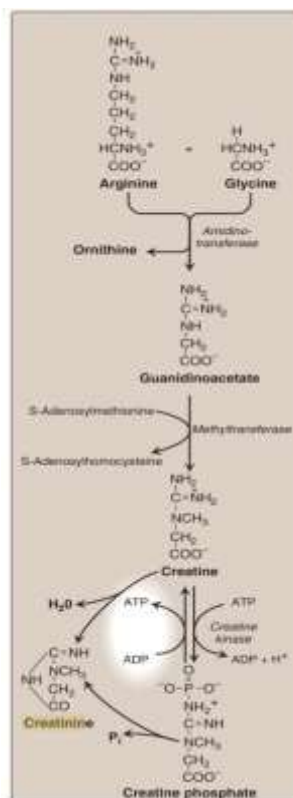


Gambar 2.8 Siklus Urea⁵⁹

Konsentrasi urea umumnya dinyatakan sebagai kandungan molekul nitrogen, yaitu nitrogen urea darah atau *blood urea nitrogen* (BUN). Pada kondisi gangguan fungsi ginjal, kadar BUN dapat mengalami peningkatan karena ginjal tidak mampu mengekskresikan urea secara normal, sehingga pemeriksaan kadar BUN dapat dilakukan untuk mengetahui kondisi fisiologis ginjal.⁵⁸ Kadar BUN normal pada tikus (*Rattus novergicus*) berada pada rentang 12,3-24,6 mg/dL.⁶⁰

2.11 Kreatinin Serum

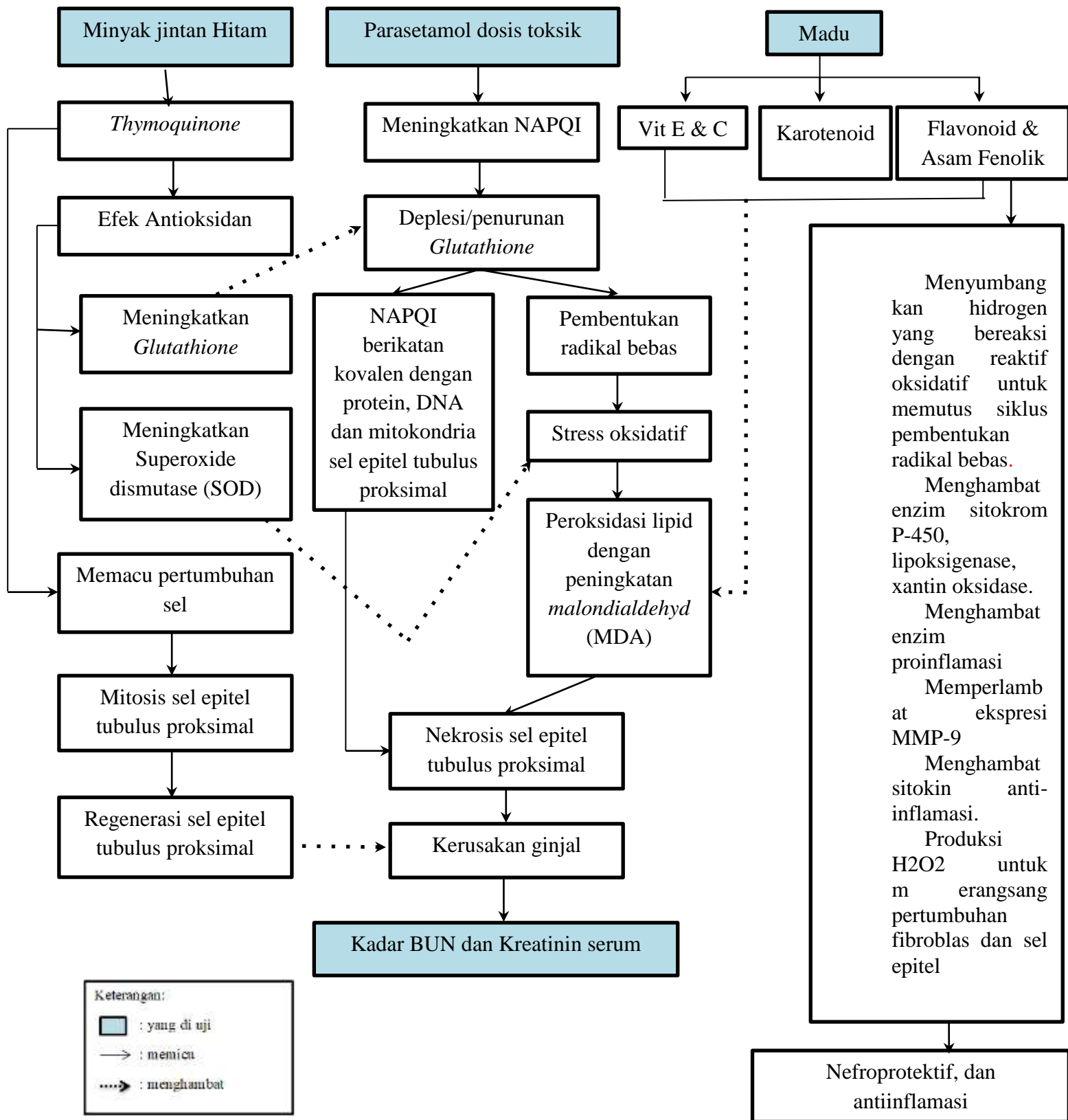
Kreatinin adalah produk akhir nitrogen yang diekskresikan oleh ginjal sama seperti urea. Kreatinin memiliki ukuran molekul lebih besar dari urea dan tidak permeabel terhadap membran tubulus, sehingga molekul kreatinin yang telah terfiltrasi oleh glomerulus hampir tidak ada yang diabsorpsi kembali oleh tubulus. Perubahan kadar kreatinin serum dapat diakibatkan oleh gangguan fungsi ginjal, peningkatan dan penurunan cardiac output dan GFR, kerusakan otot dalam jumlah besar, serta diet tinggi protein.^{58,61}



Gambar 2.9 Metabolisme Kreatinin⁵⁹

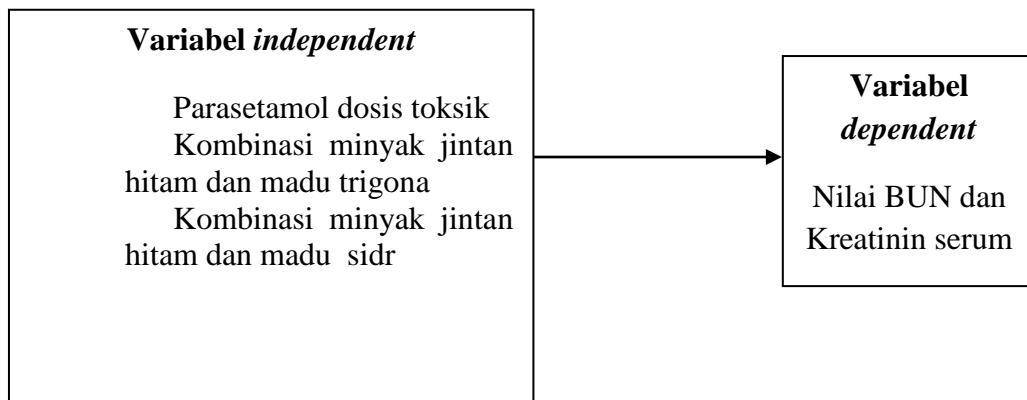
Kreatinin merupakan produk hasil penguraian kreatin. Kreatin adalah turunan asam amino yang berasal dari makanan tinggi protein dan juga disintesis di hati dari asam amino arginin, glisin dan metionin. Kreatin kemudian digunakan oleh otot tubuh untuk membentuk fosfokreatin, yaitu senyawa fosfat berenergi tinggi. Fosfokreatin kemudian dipecah untuk menyediakan cadangan energi (ATP) oleh enzim katalase kreatin kinase. Sejumlah kreatin dalam prosesnya diubah secara ireversibel menjadi kreatinin yang kemudian diekskresikan oleh ginjal.⁵⁷ Kreatinin secara konstan tergantung pada massa otot individu.⁶² Gangguan fungsi ginjal menyebabkan ekskresi kreatinin menurun dan terjadi peningkatan di dalam darah, sehingga pengukuran kadar kreatinin serum dapat menggambarkan kondisi ginjal. Kadar kreatinin serum normal pada tikus (*Rattus novergicus*) berada pada rentang 0,2-0,8 mg/dL.⁴⁷

2.12 Kerangka Teori



Gambar 2.10 Kerangka teori

2.13 Kerangka Konsep



Gambar 2.11 Kerangka Konsep

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat ukur	Skala ukur	Hasil
<i>Independent</i>				
Parasetamol	Parasetamol (acetaminophen (APAP, <i>N-acetyl-p-aminophenol</i>) yang dibeli dari <i>supplier</i> .	Timbangan digital	Rasio	Dosis 2 g/kgBB ⁴
Minyak Jintan hitam <i>Nigella sativa</i> oil	Jintan hitam yang dibeli dengan bentuk minyak yang sudah teregistrasi BPOM	Timbangan digital	Rasio	Dosis 2 ml/kgBB ^{23,24}
Madu sidr	Madu sidr yang dibeli dari apotek yang sudah teregistrasi BPOM	Timbangan digital	Rasio	Dosis 1g/kgBB ²³
Madu trigona	Madu trigona yang dibeli dari apotek yang sudah teregistrasi BPOM	Timbangan digital	Rasio	Dosis 7,4 ml/kgBB ²³

<i>Aquadest</i> (kontrol negatif)	<i>Aquades</i> merupakan air murni hasil destilasi	Timbangan Digital	Rasio	1 ml/kgBB/hari ²³
<i>Dependent</i>				
<i>Serum Blood</i> <i>Urea</i> <i>Nitrogen</i> (<i>BUN</i>)	Konsentrasi urea umumnya dinyatakan sebagai kandungan molekul nitrogen, yaitu nitrogen urea darah atau <i>blood urea</i> <i>nitrogen</i> (BUN).	Spektrofoto meter	Rasio	Rerata kadar BUN .
<i>Kreatinin</i> <i>serum</i>	Kreatinin merupakan produk hasil penguraian kreatin.	Spektrofoto meter	Rasio	Rerata Kadar Kreatinin.

3.2 Tempat dan Waktu

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Unit Pengelola Hewan Laboratorium (UPHL) Departemen Farmakologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Jl. Gedung Arca No.53 Medan, Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi USU dan UPT Laboratorium Kesehatan Daerah. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai November tahun 2021. Penelitian ini dilakukan pada masa pandemi dimana peraturan hanya terdapat 3 orang di dalam laboratorium.

3.2.2 Waktu Penelitian

Tabel 3.2 Waktu Penelitian

NO	Jenis Kegiatan	2021					2022	
		7	8	9	10	11	12	1
1	Studi literatur	■	■	■				
2	Mempersiapkan alat dan bahan penelitian		■	■				
3	Aklimatisasi hewan coba			■	■			
4	Eksperimen				■	■		
5	Pemeriksaan hasil eksperimen				■	■		
6	Analisa data					■	■	
7	Penyusunan laporan						■	■

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Pengambilan sampel dilakukan menggunakan rumus *Federer*.⁶³

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

dengan;

t = kelompok perlakuan (4 kelompok)

n = jumlah sampel tiap kelompok

Sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah:

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan rumus *Federer* diatas, maka total sampel adalah 28 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok, setiap kelompok perlakuan terdiri dari 7 tikus yang terdiri dari 6 ekor tikus tiap kelompok ditambahkan masing- masing kelompok 1 tikus cadangan apabila dalam penelitian tikus jantan wistar tiba-tiba mati saat percobaan dilakukan, maka dibutuhkan tikus tambahan.

Adapun kriteria inklusi:⁶⁴

1. Tikus jantan yang sehat dan aktif bergerak
2. Umur 8-12 minggu
3. Berat badan 150-200 g
4. Tidak tampak kelainan anatomi
5. Belum pernah digunakan sebagai subjek penelitian sebelumnya

Sedangkan kriteria eksklusi:

1. Timbul kecacatan fisik (luka dan atau patah tulang) selama masa percobaan
2. Tikus yang sakit
3. Tikus mati saat proses adaptasi.

3.4 Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan teknik eksperimental dengan rancangan *post test only with controlled group design*, menggunakan hewan coba sesuai persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara No.583/KEPK/FKUMSU/2021 untuk menggunakan hewan sebagai subjek penelitian, dimana sampel yang merupakan 28 ekor tikus jantan wistar yang dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Masing-masing kandang yang terbuat dari bahan plastik berisi 7 ekor tikus. Semua tikus diberi pakan dan minum *ad libitum*. Pada bagian dasar kandang diberi sekam untuk menjaga suhu tetap optimal.

Sebelum penelitian dimulai, tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Selanjutnya diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 28 hari. Kemudian pada hari ke 28 diberikan parasetamol oral dosis toksik 2 g/kgBB kemudian tikus-tikus dipuasakan dalam semalam, setelah itu dilakukan pengambilan darah untuk dilakukan pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin serum.

3.4.1 Alat

1. Kandang tikus
2. Wadah pakan standar
3. Wadah air untuk minum
4. Sarung tangan steril
5. Masker
6. Timbangan digital
7. Sonde

3.4.1.1 Pengambilan Darah

1. Tabung sampel untuk kimia darah
2. Minor set
3. Sduit 3cc

3.4.1.2 Pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum

1. Pipet otomatis
2. Tabung reaksi
3. Inkubator
4. Spektrofotometer
5. *Vortex*
6. *centrifuge*

3.4.2 Bahan

3.4.2.1 Perlakuan

1. Tikus jantan galur wistar
2. Makanan dan minuman tikus
3. *Aquadest*
4. Kertas label
5. Parasetamol
6. Minyak jintan hitam (*Nigella sativa oil*) merk x yang dibeli dari apotek yang sudah teregistrasi BPOM
7. Madu sidr merk x yang dibeli dari apotek yang sudah teregistrasi BPOM
8. Madu Trigona merk x yang dibeli dari apotek yang sudah teregistrasi BPOM

3.4.2.2 Pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum

1. Sampel Serum
2. Reagen 1 pemeriksaan Urea Erba
 - a. Tris buffer 100mmol/l
 - b. α -ketoglutarat 5,49 mmol/l
 - c. Urease (jack bean) $\geq 10\text{kU/l}$
 - d. GLDH (microorganism) $\geq 3,8\text{kU/l}$
3. Reagent 2 pemeriksaan Urea Erba (NADH 1,66 mmol/l)
4. Reagent 3 pemeriksaan Urea Erba (standard)

5. Reagen 1 pemeriksaan Kreatinin Erba (Sodium hydroxide 349 mmol/l)
6. Reagent 2 pemeriksaan Kreatinin Erba (Picric acid 11 mmol/l)
7. Reagent 3 pemeriksaan Kreatinin Erba (standard).

3.4.3 Uji Fitokimia Minyak Jintan Hitam

a. Uji flavonoid

Sebanyak 4 ml sampel minyak jintan hitam dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1,5 ml metanol 50% dan dipanaskan. Selanjutnya ditambahkan serbuk Mg dan 5-6 tetes HCl. Terbentuknya warna merah atau orange menandakan adanya senyawa flavonoid.⁶⁵

b. Uji saponin

Sebanyak 2 ml sampel minyak jintan hitam dilarutkan dalam 2 ml air dan dikocok kuat-kuat hingga terbentuk buih selama kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada saat penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang.⁶⁵

c. Uji tanin

Sebanyak 1 ml sampel minyak jintan hitam ditambahkan 3-4 tetes larutan FeCl₃ 10%. Apabila terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya kandungan tanin.⁶⁵

d. Uji terpenoid

Sebanyak 2 ml sampel minyak jintan hitam ditambahkan 2 ml kloroform, kemudian ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 3 ml. Terbentuknya warna coklat kemerahan menunjukkan adanya terpenoid.⁶⁵

e. Uji Kuinon

Sebanyak 1 ml minyak jintan hitam ditambahkan dengan NaOH 1 N 20 tetes, kemudian diaduk dan didiamkan selama beberapa saat. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan.⁶⁶

3.4.4 Uji Fitokimia Madu

a. Uji Alkaloid

Sampel madu sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 6 ml aquades. 3 ml larutan dipipet kedalam tabung reaksi lain dan ditambahkan 0,3 ml HCl 2N. Larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 3 menit kemudian dibiarkan dingin. larutan dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing 1 ml. Tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, dan pereaksi Wagner ke dalam masing-masing tabung reaksi. Hasil positif ditunjukkan oleh endapan merah untuk alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, endapan putih untuk alkaloid dengan pereaksi Mayer, dan endapan merah kecoklatan untuk alkaloid dengan pereaksi Wagner.⁶⁷

b. Uji Triterpenoid dan Steroid

Sampel madu sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 6 ml aquades. Dipipet 1 ml larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi lain dan ditambahkan 1 ml metanol. Sekitar 2-3 tetes larutan dipindahkan ke dalam plat dan dititrasi dengan 2 tetes asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan warna merah atau jingga, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan warna biru kehijauan.⁶⁷

c. Uji Flavonoid

Sebanyak 2 ml sampel madu dilarutkan dengan 6 ml aquades dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pipet 1 ml larutan dan ditambahkan 1 ml etanol dan dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Beberapa tetes HCl pekat ditambahkan dan dilanjutkan dengan 0,025 g Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua (magenta) dalam waktu 3 menit.⁶⁷

d. Uji Tanin

Sampel madu sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 3 ml aquades. Tiga tetes larutan dipindahkan ke dalam

plat dan dititrasi dengan 2-3 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan warna biru tua atau hitam kehijauan.⁶⁷

e. Uji Saponin

Sampel madu sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan 6 ml aquades, dipanaskan selama 2-3 menit atau dikocok selama 10 menit, dan didinginkan selama 15 menit, dikocok kuat-kuat kemudian ditambahkan 2 tetes HCl. Jika terbentuk busa yang stabil maka sampel positif mengandung saponin.⁶⁷

3.4.5 Persiapan Hewan Coba

1. Dua puluh delapan ekor tikus jantan galur wistar dimasukkan ke dalam kandang, masing-masing berisi 7 ekor tikus.
2. Kandang ditempatkan pada ruangan dengan ventilasi yang baik, dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap, tenang, suhu diatur pada suhu kamar 25°C .
3. Tikus diberi makan dan minuman secara *ad libitum*. Setiap harinya tikus diberi makan pakan kering berbentuk pelet dan diberi minum air *aquades*.

3.4.6 Pemberian Perlakuan

1. Seluruh tikus jantan (dua puluh delapan ekor) dibagi menjadi 4 kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Masing-masing tikus diberi label pada ekornya sesuai nama kelompoknya menggunakan spidol tahan air. Kemudian dilakukan aklimatisasi selama 7 hari,
2. Kelompok negatif (KN) :kelompok normal dan hanya diberikan diet standar
3. Kelompok positif (KP): diberi diet standar dan diberikan parasetamol 2 g/kgBB pada hari ke 28 penelitian.⁴
4. Perlakuan 1 (P1): diberi diet standar ditambahkan minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB, ditambahkan madu sidr dengan dosis 1

g/kgBB/hari selama 28 hari dan ditambah pemberian parasetamol 2 g/kgBB pada hari ke 28 penelitian.

5. Perlakuan 2 (P2): diberi diet standar ditambahkan minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB, ditambahkan madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgbb/hari selama 28 hari dan ditambah pemberian parasetamol 2 g/kgBB pada hari ke 28 penelitian.
6. Perlakuan dilaksanakan selama 28 hari, setelah pemberian parasetamol tikus dipuaskan dalam 1 malam dan pada hari ke-29 tikus dilakukan dekapitasi leher kemudian darah tikus diambil.

3.4.7 Cara Pemberian Obat pada Tikus Wistar (*rattus norvegicus*)⁶⁸

1. Tikus wistar (*rattus norvegicus*) diangkat dengan memegang ekornya dari belakang, kemudian diletakkan di atas permukaan datar dan tidak licin seperti pada ram kawat.⁶⁸
2. Untuk memegang tikus wistar (*rattus norvegicus*), telunjuk dan ibu jari kiri menjepit kulit tengkuknya sedangkan tangan kanan memegang ekornya, setelah itu tubuh tikus wistar (*rattus norvegicus*) dapat diangkat dan dibalikkan sehingga permukaan perut menghadap ke praktikan.⁶⁸
3. Untuk memudahkan pemberian obat, ekor tikus wistar (*rattus-norvegicus*) yang dipegang tangan kanan dipindahkan dan dijepitkan diantara jari manis dan jari kelingking tangan kiri, sehingga tikus wistar (*rattus norvegicus*) cukup erat dipegang.⁶⁸
4. Cairan diberikan dengan menggunakan sonde oral. Sonde oral ditempelkan pada langit-langit Mulut atas tikus wistar (*rattus-norvegicus*), kemudian perlahan dimasukkan sampai ke esofagus dan cairan obat dimasukkan.⁶⁸

3.4.8 Pengambilan Sampel Darah

1. Pada tikus dilakukan dekapitasi leher.
2. Setelah tikus teranestesi maka dilakukan insisi di dada, dan dibuka bagian jantung, setelah jantung terlihat maka darah diambil dari jantung dengan spuit 3 cc, sebanyak 2 cc.
3. Darah ditampung dalam tabung kimia, lalu diletakkan miring 45° dan dibiarkan membeku pada suhu kamar.
4. Selanjutnya dilakukan *centrifuge* untuk mendapatkan serum dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit.

3.4.9 Analisis BUN dan Kreatinin serum

Tabel 3.3 Analisis Urea Metode dua reaksi-substrat

	Blank	standard	Sampel
Reagent 1	0.800 ml	0.800 ml	0.800 ml
Sampel	-	-	0.010 ml
Standard	-	0.010 ml	-
Aquadest	0.010 ml	-	-
Campur dan tambahkan kemudian inkubasi (suhu 37°C) selama 1 menit			
Reagent 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml
campur dan ukur absorbansi awal setelah 30 detik (1), hentikan pengukuran lalu baca hasil absorbansi setelah 1 menit (2) bandingkan terhadap blanko reagen.			

Tabel 3.4 Analisis Urea Metode monoreaksi-sampel

	Blank	standard	Sampel
Reagent kerja	1000 ml	1000	1000
Sampel	-	-	0.010 ml
Standard	-	0.010 ml	-
Aquadest	0.010 ml	-	-
Campur dan ukur absorbansi awal setelah 30 detik (1), hentikan pengukuran lalu baca hasil absorbansi setelah 1 menit (2) bandingkan terhadap blanko reagen			

Perhitungan Kadar Urea

$$\text{Urea (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ sample} - \Delta A \text{ blanko}}{\Delta A \text{ kalibrasi} - \Delta A \text{ blanko}} \times C_{\text{kalibrasi}}$$

Tabel 3.5 Analisis Kreatinin

	Blank	Standard (caliber)	sample
Working reagent	1.00 ml	1.00 ml	1.00 ml
Sample	-	-	0.100 ml
Standard (caliber)	-	0.100 ml	-
Distilled water	0.100 ml	-	-

Campurkan dengan baik dan baca hasil absorbansi awal (A1) 30 detik setelah pencampuran. Absorbansi akhir (A2) 60 detik setelah pencampuran

Perhitungan Kadar Kreatinin

$$\text{Kreatinin (mg/dl)} = \frac{\frac{\Delta A \text{ sampel}}{\text{menit}} - \frac{\Delta A \text{ blanko}}{\text{menit}}}{\frac{\Delta A \text{ standard}}{\text{menit}} - \frac{\Delta A \text{ blanko}}{\text{menit}}} \times C_{\text{standard}}$$

3.5 Metode Pengumpulan Data

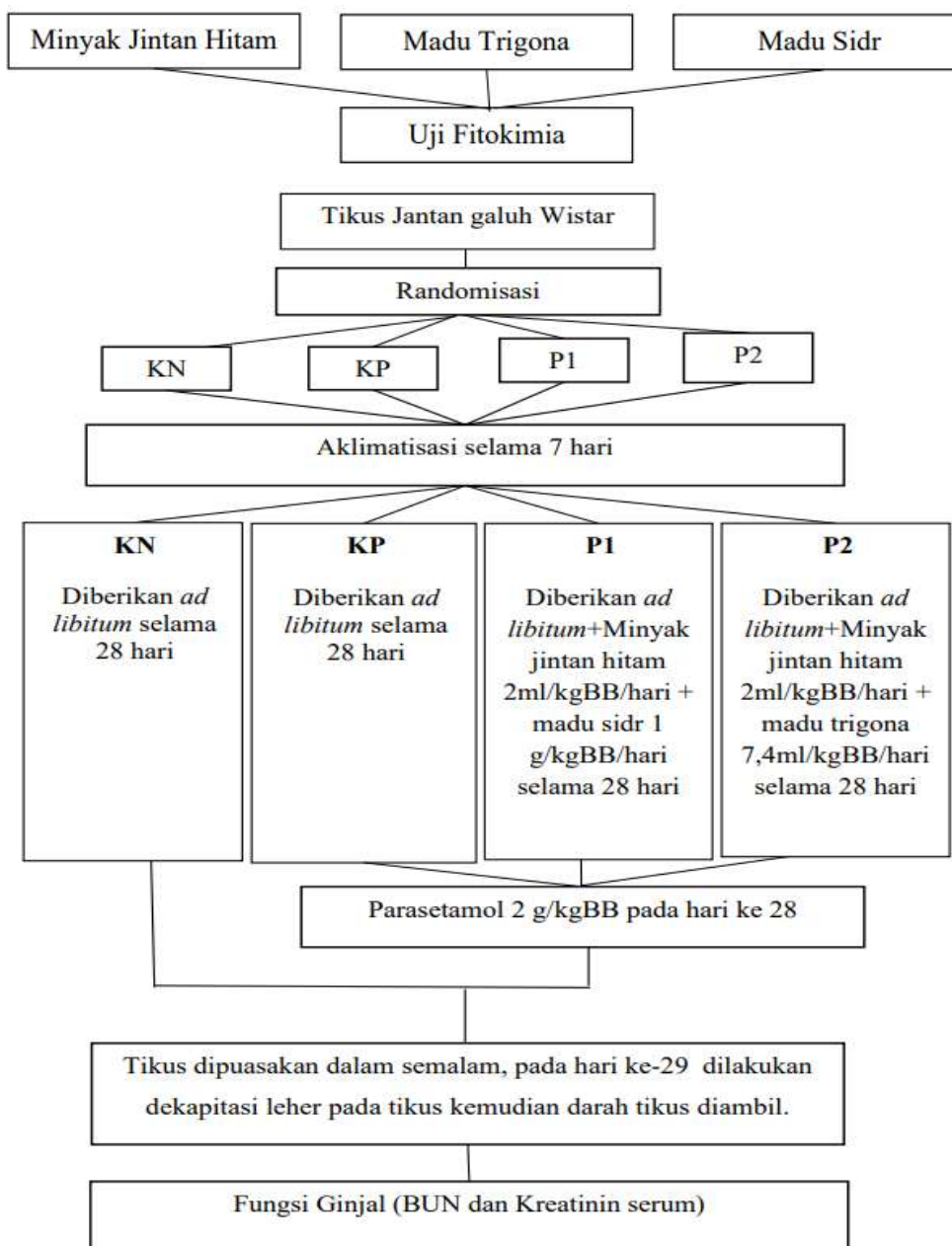
Data dalam penelitian ini adalah:

Data rerata kadar BUN dan Kreatinin serum tiap kelompok penelitian.

3.6 Metode Analisis Data

Data rerata BUN dan Kreatinin masing-masing kelompok dianalisis dengan menggunakan program komputer SPSS (*Statistic package for the social science*) versi 25.0. Hasil uji normalitas dengan *Shapiro wilk* diperoleh seluruh data terdistribusi normal, kemudian telah dilakukan uji *One way Anova* di dapat data bersifat homogen kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc Bonferroni*.

3.7 Alur Penelitian



Keterangan

KN = Kontrol Negatif

KP = Kontrol Positif

P1 = Perlakuan 1

P2 = Perlakuan 2

Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian dengan jumlah sampel 6 ekor tikus setiap kelompok dan 1 ekor tikus cadangan untuk setiap kelompok. Selama Penelitian terdapat 3 ekor tikus yang mati selama perlakuan, 1 tikus dari KN, 1 tikus dari KP dan 1 tikus dari P1. Tidak diketahui penyebab kematian tikus. Hipotesis kematian tikus tersebut bisa karena stres selama masa aklimatisasi dan perlakuan, stres bisa disebabkan selama proses *handling*, perawatan, pemberian pakan, penggantian sekam dilakukan oleh banyak individu. Seharusnya hal ini dilakukan oleh salah seorang laboran yang memang ahli dan terlatih yang mengetahui bagaimana seharusnya hewan coba diperlakukan sehingga tidak terjadi stres pada hewan coba tersebut. Bahan uji berupa madu trigona, madu sidr dan minyak jintan hitam yang dibeli dan sudah teregistrasi BPOM. Uji kualitatif fitokimia terhadap minyak jintan hitam, madu sidr dan madu trigona dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Minyak Jintan Hitam, Madu Sidr dan Madu Trigona secara Kualitatif

NO	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil Pengujian		
			Minyak Jintan Hitam	Madu Sidr	Madu Trigona
1	Alkaloid	Dragendorff	-	-	-
		Bouchardat	-	-	-
		Meyer	-	-	-
2	Flavonoid	Serbuk Mg + Amil Alkohol + HCL _p	+	+	+
3	Glikosida	Molisch + H ₂ SO ₄	+	+	+
4	Saponin	Air panas / dikocok	-	-	-
5	Tanin	FeCl ₃	+	-	-
6	Triterpenoid/ Steroid	Lieberman- Bourchat	+	+	+

Hasil pengukuran kadar fungsi ginjal tikus pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel dibawah ini.

Tabel 4.2 Rerata kadar BUN dan Kreatinin pada kelompok penelitian.

Rerata \pm s.d	Kelompok			
	KN(n=6)	KP(n=6)	P1(n=6)	P2(n=6)
Ureum	23.6 \pm 7.55	48.5 \pm 8.28	33.5 \pm 13.9	38.17 \pm 12.4
Kreatinin	0.21 \pm 0.39	1.05 \pm 0.19	0.28 \pm 0.05	0.34 0.12

Dari tabel 4.2 di atas, menunjukkan bahwa parasetamol dapat meningkatkan kadar ureum dua kali lipat lebih tinggi dari nilai normal yang menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal. Dilihat dari rata-rata ureum dan kreatinin didapatkan nilai yang paling mendekati normal adalah pada kelompok madu sidr ditambah jintan hitam.

4.2 Analisis Data

Tabel 4.3 Hasil Uji Normalitas Kadar Ureum Kelompok KN, KP, P1 dan P2

Kelompok	<i>P</i>
KN	0.841
KP	0.488
P1	0.334
P2	0.824

Keterangan: Hasil uji normalitas Shapiro wilk $P > 0.05$ = data terdistribusi normal.

Kemudian dilakukan uji homogenitas tiap variabel didapat nilai $P = 0.193$.

Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kadar Kreatinin Kelompok KN, KP, P1 dan P2

Kelompok	<i>P</i>
KN	0.573
KP	0.167
P1	0.917
P2	0.928

Keterangan: Hasil uji normalitas kadar kreatinin $P > 0.05$ = data terdistribusi normal.

Kemudian dilakukan uji homogenitas tiap variabel didapat nilai $P = 0.132$.

Dari tabel 4.3, 4.4 dan uji homogenitas di atas dapat disimpulkan bahwa variabel mempunyai data yang terdistribusi normal dan bersifat homogen. Karena

asumsi dasar telah terpenuhi maka analisis parametrik dengan *uji One Way Anova* dapat dilakukan. Didapatkan hasil pada tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil *uji Bonferroni* kadar Ureum kelompok KN, KP, P1 dan P2

Kelompok	Sig.	P	Kemaknaan
KN vs KP	0.005	= 0.05	Signifikan
KN vs P1	0.799	> 0.05	Tidak Signifikan
KN vs P2	0.191	> 0.05	Tidak Signifikan
KP vs P1	0.161	> 0.05	Tidak Signifikan
KP vs P2	0.693	> 0.05	Tidak Signifikan
P1 vs P2	1	> 0.05	Tidak Signifikan

Dari tabel 4.5 di atas didapatkan hasil yang signifikan antara KN dan KP menunjukkan bahwa parasetamol dapat menyebabkan peningkatan pada kadar ureum dan terjadi gangguan fungsi ginjal, belum terlihat efek protektor yang maksimal baik pemberian minyak jintan hitam ditambahkan madu sidr maupun minyak jintan hitam ditambahkan madu trigona.

Tabel 4.6 Hasil *uji Bonferroni* kadar Kreatinin kelompok KN, KP, P1 dan P2

Kelompok	Sig.	P	Kemaknaan
KN vs KP	0.000	< 0.05	Signifikan
KN vs P1	0.407	> 0.05	Tidak Signifikan
KN vs P2	0.041	< 0.05	Signifikan
KP vs P1	0.000	< 0.05	Signifikan
KP vs P2	0.000	< 0.05	Signifikan
P1 vs P2	1	> 0.05	Tidak Signifikan

Dari tabel 4.6 di atas didapatkan hasil yang signifikan antara KN vs KP menunjukkan bahwa parasetamol dapat menyebabkan peningkatan pada kadar kreatinin dan terjadi gangguan fungsi ginjal. Dan pada KN vs P1 yang tidak signifikan, menunjukkan bahwa efek protektifnya bisa mencapai nilai normal, sedangkan KN vs P2 yang signifikan menunjukkan nilai efek protektif madu trigona lebih rendah dari madu sidr, namun jika dibandingkan antara P1 dan P2 efek protektifnya tidak signifikan, dengan demikian efek protektif antara minyak

jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona adalah sama.

4.3 Pembahasan

Ginjal adalah organ penting yang berperan dalam manusia dan hewan. Fungsi umum ginjal adalah untuk mengatur tekanan darah, keseimbangan asam-basa, keseimbangan elektrolit dan ekstraselular volume cairan. Ginjal juga menghilangkan zat-zat dari tubuh termasuk produk metabolisme, berbagai racun dan zat asing lainnya seperti obat-obatan, pestisida dan bahan tambahan makanan.^{69,70}

Pada penelitian ini diamati aktivitas nefroprotektor pemberian minyak jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona terhadap rerata nilai ureum dan kreatinin serum akibat paparan parasetamol. Penggunaan parasetamol dosis toksik berperan dalam merusak sel hepar, hepatotoksik yang disebabkan parasetamol dapat memicu terjadinya nefrotoksik dan insufisiensi ginjal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed Abdeen, dkk yang mengatakan bahwa Parasetamol dosis 2g/KgBB dosis tunggal peroral menyebabkan ginjal kerusakan diakibatkan dari akumulasi yang tinggi dari hasil Metabolit toksik APAP yaitu NAPQI. Toksisitas Ginjal yang diinduksi NAPQI dimediasi oleh stres oksidatif yang terjadi karena peningkatan pembentukan ROS yang mengoksidasi molekul makromol seluler yang mengarah ke induksi peroksidasi lipid, oksidasi protein, disfungsi mitokondria, dan kerusakan DNA.⁴

Pada hasil penelitian ini, dilihat dari rata-rata nilai ureum yang mendapat pengaruh dari pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB (P1) tampak lebih baik dibandingkan dengan pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgBB (P2), walaupun hasilnya belum bisa mencapai kadar nilai normal dari fungsi ginjal. Pada tabel 4.2 nilai ureum lebih rendah pada kelompok P1 namun efek protektif ini belum bisa dikatakan yang paling efektif.

Sedangkan pada kadar kreatinin kelompok P1 dan P2 dalam rentang nilai normal, Namun saat dilakukan pengujian dengan uji statistik *One Way Anova* terhadap kadar ureum dan kreatinin kelompok P1 vs P2, didapatkan perbedaan yang tidak signifikan sehingga dapat dikatakan bahwa kedua kelompok perlakuan tersebut memiliki efektivitas yang sama. Serum kreatinin merupakan penilaian fungsi ginjal yang lebih akurat dari pada ureum. Selain pada kondisi gagal ginjal akut atau kronik peningkatan kadar ureum dapat terjadi pada kondisi lain seperti perdarahan saluran cerna atas, dehidrasi, keadaan katabolik dan diet tinggi protein.⁷¹

Penelitian ini juga sesuai dengan penelitian lain yang dilakukan oleh mohamed abdelmohsen abdallah, dkk menyatakan bahwa pemberian parasetamol dengan dosis 1g/KgBB per oral dan diberikan minyak jintan hitam 2 ml/KgBB ditambah madu sidr 1g/KgBB adalah konsentrasi paling efektif dalam menurunkan enzim hati, meningkatkan fungsi ginjal, meningkatkan total antioksidative capacity dan Fas ligand jaringan.²³ Penelitian lain yang sejalan dinyatakan oleh Fatma Al-Zahra, dkk tetapi cara pemberian dan jumlah dosis parasetamol yang berbeda menyatakan bahwa pemberian parasetamol dengan dosis tunggal 600/KgBB secara intraperitoneal menyebabkan penurunan kadar glutathion dalam sitoplasma dan mitokondria sehingga terjadi akumulasi radikal bebas, peroksidasi lipid, peningkatan malondialdehid yang mengakibatkan nefrotoksistas. Tetapi pada perlakuan yang diberikan jintan hitam 1g/KgBB ditambah madu sidr 1g/KgBB menunjukkan gambaran histologi, kadar ureum dan kreatinin yang hampir normal.⁷²

Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Rita Noviana, dkk yang menyatakan bahwa pemberian dosis minyak jintan hitam 2 ml/KgBB ditambah madu trigona 7.4ml/KgBB menunjukkan peningkatan paling besar terhadap antioksidan capacity dan meningkatkan efek sinergis paling baik dalam menurunkan inflamasi dan stres oksidatif serta menghambat aktivasi *Nuclear factor kappa B (NF-kB)* ditandai dengan peningkatan level serum GSH dan penurunan level serum MDA di ginjal.²⁴

Pada penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB selama 28 hari dibandingkan dengan minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgBB selama 28 hari memiliki efektivitas protektif yang sama. Namun, efek protektif belum mencapai nilai sempurna pada penelitian ini, mungkin jika dilakukan peningkatan dosis madu sidr ataupun menurunkan dosis madu trigona akan menunjukkan hasil yang lebih efektif lagi, dan juga diperlukan kajian fitokimia terhadap minyak jintan hitam, madu sidr dan madu trigona untuk menentukan dosis dan jenis madu yang paling efektif. Pada penelitian ini hanya melakukan analisis fitokimia secara kualitatif dan ternyata terdapat persamaan kandungan madu sidr dan madu trigona, sehingga untuk penelitian selanjutnya untuk mengetahui berapa kadar sebenarnya dari masing masing madu perlu dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan uji HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Keterbatasan dalam penelitian adalah penggunaan dosis yang terfokus pada penelitian sebelumnya saja sehingga dosis minyak jintan hitam serta dosis madu yang digunakan pada penelitian ini kurang bervariasi.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pemberian parasetamol dengan dosis toksik dosis tunggal telah menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal tikus.
2. Minyak jintan hitam ditambah madu sidr memiliki efek nefroprotektor.
3. Minyak jintan hitam ditambah madu trigona memiliki efek nefroprotektor .
4. Pemberian minyak jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona memiliki efektifitas yang sama

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai perbandingan pengaruh pemberian minyak jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona dengan dosis yang lebih bervariasi.
2. Perlu dilakukan identifikasi kuantitatif dari zat aktif yang terdapat pada minyak jintan hitam, madu sidr dan madu trigona sehingga dapat menentukan dosis dan jenis madu yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Vervaet BA, D'Haese PC, Verhulst A. Environmental Toxin Induced Acute Kidney Injury. *Clin Kidney J.* 2017;10(6):747-758. Doi:10.1093/Ckj/Sfx062
2. Conaghan PG, Arden N, Avouac B, Migliore A, Rizzoli R. Safety Of Paracetamol In Osteoarthritis: What Does The Literature Say? *Drugs And Aging.* 2019;36(S1):7-14. Doi:10.1007/S40266-019-00658-9
3. Gummin DD, Mowry JB, Beuhler MC, Et Al. 2019 Annual Report Of The American Association Of Poison Control Centers' National Poison Data System (NPDS): 37th Annual Report. *Clin Toxicol (Phila).* 2020;58(12):1360-1541. Doi:10.1080/15563650.2020.1834219
4. Canayakin D, Bayir Y, Kilic Baygutalp N, Sezen Karaoglan E, Tarik Atmaca H, Sait Keles M, Et Al. Paracetamol-Induced Nephrotoxicity And Oxidative Stress In Rats: The Protective Role Of Nigella Sativa. *Pharm Biol.* 2016;54(10):2082-2091. Doi:10.3109/13880209.
5. Siker BPOM. Data Keracunan Di Indonesia Tahun 2016. BPOM:2016
6. Winotopradjoko M, Patra K, Ritiasa K, Hamid B, Sosialine E, Prajitno MD. ISO Indonesia Informasi Spesialite Obat Indonesia. Volume 51. Jakarta:Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia;2018
7. Abdeen A, Abdelkader A, Abdo M, Wareth G, Aboubakr M, Aleya L, Et Al. Protective Effect Of Cinnamon Against Acetaminophen-Mediated Cellular Damage And Apoptosis In Renal Tissue. *Environ Sci Pollut Res.* 2019;26(1):240-249. Doi:10.1007/S11356-018-3553-2
8. Moshaiie-Nezhad P, Hosseini SM, Yahyapour M, Iman M, Khamesipoure A. Protective Effect Of Ivy Leaf Extract On Paracetamol-Induced Oxidative Stress And Nephrotoxicity In Mice. *J Herbmed Pharmacol.* 2019;8(1):64-68. Doi:10.15171/Jhp.2019.11
9. Hegazy MGA, Emam MA, Khattab HI, Helal NM. Biological Activity Of Echinops Spinosus On Inhibition Of Paracetamol-Induced Renal Inflammation. *Biochem Cell Biol.* 2019;97(2):176-186. Doi:10.1139/Bcb-2018-0212
10. Chinnappan SM, George A, Thaggikuppe P, Choudhary Y, Choudhary V, Ramani Y, Et Al. Nephroprotective Effect Of Herbal Extract Eurycoma Longifolia On Paracetamol-Induced Nephrotoxicity In Rats. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2019. Doi:10.1155/2019/4916519
11. Febilani E, Berata IK, Samsuri, Merdana IM, Sudimartini LM. Pengaruh Pemberian Propolis Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Yang Diberikan Parasetamol Dosis Tinggi. *Bul Vet Udayana.* 2017;9(1):9-15. Doi:10.21531/Bulvet.2017.9.1.9
12. Safarsyah AI. Hadis Nabi SAW Tentang Obat Dalam Tinjauan Ilmu Kedokteran Modern. *Al-Dzikra J Stud Ilmu Al-Qur'an Dan Al-Hadits.* 2019;12(2):165-188. Doi:10.24042/Al-Dzikra.V12i2.2079

13. Yenita Y. Uji Efektivitas Pemberian Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) Terhadap Kadar Gula Darah Mencit Diabetes Melitus Yang Diberi Aloksan, *Buletin Farmatera*. 2017;2(2):101-115
14. Tavakkoli A, Mahdian V, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Review On Clinical Trials Of Black Seed (*Nigella Sativa*) And Its Active Constituent, Thymoquinone. *J Pharmacopuncture*. 2017;20(3):179-193. Doi:10.3831/KPI.2017.20.021
15. Benhelima A, Omar ZK, Hemida H, Benmahdi T, Addoud A. Nephroprotective And Diuretic Effect Of *Nigella Sativa* L Seeds Oil On Lithiasic Wistar Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med* . 2016;13(6) : 204-214.
16. Hasan M, Khan R, Nasiruddin M, Khan A. Ameliorative Effect Of *Nigella Sativa* Oil Against Paracetamol Induced Hepatic And Renal Damages In Rats. *Br J Pharm Res*. 2016;13(3):1-10. Doi:10.9734/Bjpr/2016/27597.
17. Mashayekhi-Sardoo H, Rezaee R, Karimi G. *Nigella Sativa* (Black Seed) Safety: An Overview . *Asian Biomed*. 2020;14(4):127-137. Doi:10.1515/Abm-2020-0020
18. Arawwawala M, Hewageegana Sujatha. Health Benefits And Traditional Uses Of Honey: A Review. *J Apitherapy*. 2017;2(1):9. Doi:10.5455/Ja.20170208043727
19. Purnamasari P, Purnawati RD, Susilaningsih N. Pengaruh Ekstrak Daun Sukun Dan Madu Terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar Yang Diinduksi Dietilnitrosamin. *Diponegoro Med J*. 2018;7(2):1391-1405.
20. Mamada SS, Usmar U, Aliyah A, Aminulah, Rahayu AI, Hidayat H, Et Al. Pengaruh Suplementasi Madu *Trigona* Terhadap Parameter Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Albino (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberikan Simvastatin. *J Farm Galen*. 2018;4(1):36-43. Doi:10.22487/J24428744.2018.V4.I1.9960
21. Yazan LS, Firdaus M, Muhamad S, Ali R, Zainal NA, Esa N, Et Al. Chemopreventive Properties And Toxicity Of Kelulut Honey In Sprague Dawley Rats Induced With Azoxymethane. *Hindawi Publishing Corporation*. 2016;2016. Doi.Org/10.1155/2016/4036926.
22. Ibrahim A, Eldaim MAA, Abdel-Daim MM. Nephroprotective Effect Of Bee Honey And Royal Jelly Against Subchronic Cisplatin Toxicity In Rats. *Cytotechnology*. 2016;68(4):1039-1048. Doi:10.1007/S10616-015-9860-2
23. Abdallah MA, Zayed MA, Kelany ME. Antioxidant And Antiapoptic Effects Of Combined Sidr Honey And *Nigella Sativa* Oil Against Paracetamol-Induced Hepatonephrotoxicity In Rats. *Vol J. ZUMJ*. 2016;22(1).
24. Noviana R, In M, Handini M. Synergistic Protective Effect Of Commercial *Nigella Sativa* Oil And Honey Combination Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity In Rats. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*.2020;57-65.
25. Wibowo DS, Wijaya P. *Anatomi Tunuh Manusia*. Bandung: Graha Ilmu;2007.
26. Senll RS. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*.(Suwahjo A, Liestyawan YA,Eds.) Jakarta:2014.

27. Schunke M, Schulte E, Schumacter U. Prometheus Atlas Anatomi Manusia Organ Dalam.3rd Ed. (Sugiharto L, Suyono YJ,Eds) Jakarta:EGC;2016.
28. Drake R, Volg A, Mitchell A. *Gray Dasar-Dasar Anatomy*. Canada: Churchill Livingstone Elsevier;2012.
29. Mescher AL.*Hystologi Dasar Junquiera Teks Dan Atlas*. 14th Ed (Susanti F, Wijaya HS, Agustina L, Agustin S, Sadikin RE, Eds).Jakarta:EGC;2018.
30. Sherwood L. *Fisiologi Manusia Dari Sel Ke Sistem*. 8th Ed (Ong HO, Mahode AA, Ramadhani D, Eds). Jakarta: EGC;2014.
31. Gunawan SG.Farmakologi Dan Terapi.6th Ed (Nafrialdi RS,Elysabeth,Eds.Jakarta:FKUI;2016.
32. Dtb W. What Dose Of Paracetamol For Older People. Dtb BMJ 2018;56(6):69-72.
33. Irna A, Sari N. Penentuan Kafein Dan Parasetamol Dalam Sediaan Obat Sakit Kepala Secara Simultan Menggunakan Spektrofotometer UV- Vis. 2019;02(01):20-27.
34. Brunton LL, Keith.Goodman&Gilman Manual Farmakologi Dan Terapi.Jakarta: EGC;2011.
35. Widagdo CT, Naibaho P, Jayadi T, Danu S. Pengaruh Pemberian Ekstrak Curcuma Longa Dengan Tingkat Toksisitas Parasetamol Pada Gaster , Hepar Dan Renal Mencit Jantan Galur Swiss.Berkala Ilmiah Kedokteran Duta Wacana. 2016:109-119.
36. Islam MT, Khan R, Kumar S.: Phytochemistry, Pharmacology And Therapeutic Promises Of Nigella Sativa L. An Updated Literature-Based Review. Orient Pharm Exp Med. 2019;(0123456789). Doi:10.1007/S13596-019-00363-3
37. Mardisiwi RS, Kurniawati A, Sulistyono E, Faridah N. Growth And Production Of Black Cumin On Several Media Composition And Watering Interval. J Argon Indonesia. 2018;46(4):89-94. Doi.Org/10.24831/Jai.V46i1.16723.
38. Kazmi A, Khan MA. Ali H, Dilshad E.. Biotechnological Approaches For Production Of Bioactive Secondary Metabolites In Nigella Sativa: An Up-To-Date Review. 2019;6(2):172-195. Doi.Org/10.21448/Ijasm.575075.
39. Srinivasan K. Cumin (Cuminum Cyminum) And Black Cumin (Nigella Sativa) Seeds : Traditional Uses, Chemical Constituents, And Nutraceutical Effects. Food Quality And Safety.2018;24(1):1-16. Doi:10.1093/Fqsafe/Fyx031
40. Herlina, Aziz SA, Kurniawati A, Faridah DN. Growth And Production Of Black Cumin (Nigella Sativa L .) At Three Altitudes In Indonesia. J Argon Indonesia. 2017;45(3):323-330. Doi.Org/10.24831/Jai.V45i3.13363.
41. Khan A, Tania M, Fu S, Fu J. Thymoquinone, As An Anticancer Molecule: From Basic Research To Clinical Investigation. Impact Journals. 2017;8(31):51907-51919.

42. Alkharfy KM, Ahmad A, Khan RMA, Al-Shagha WM. Pharmacokinetic plasma behaviors of intravenous and oral bioavailability of thymoquinone in a rabbit model. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2015;40(3):319-323. doi:10.1007/s13318-014-0207-8
43. Mohammadabadi MR, Mozafari MR. Enhanced efficacy and bioavailability of thymoquinone using nanoliposomal dosage form. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2018;47:445-453. doi:10.1016/j.jddst.2018.08.019
44. Cianciosi D, Yuliett T, Afrin S, Gasparrini M, Rodriguez P, Manna P, Et Al. Phenolic Compounds In Honey And Their Associated Health Benefits: A Review. :1-20. 2018. Doi:10.3390/Molecules23092322
45. Ahmed S, Sulaiman SA, Baig AA, Ibrahim M, Liaqat S, Fatima S, Et Al. Honey As A Potential Natural Antioxidant Medicine : An Insight Into Its Molecular Mechanisms Of Action. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity.* 2018;18(1). Doi:10.1155/2018/8367846
46. Mamada SS, Usmar U, Aliyah A, Et Al. Pengaruh Suplementasi Madu Trigona Terhadap Parameter Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Albino (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberikan Simvastatin. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy).* 2018;4(1):36-43. Doi:10.22487/J24428744.2018.V4.I1.9960
47. Oktaviani.J. Jurnal Keperawatan Muhammadiyah Bengkulu. *Sereal Untuk.* 2020;8(1):51
48. Rao PV, Krishnan KT, Salleh N, Gan SH. Biological And Therapeutic Effects Of Honey Produced By Honey Bees And Stingless Bees: A Comparative Review. *Rev Bras Farmacogn.* 2016;26(5):657-664. Doi:10.1016/J.Bjp.2016.01.012
49. Zulkhairi Amin FA, Sabri S, Mohammad SM, Ismail M, Chan KW, Ismail N. Et Al. Therapeutic Properties Of Stingless Bee Honey In Comparison With European Bee Honey. *Adv Pharmacol Sci.* 2018;2018. Doi:10.1155/2018/6179596
50. Taha A, Babel N, Elshishtawy H. Physicochemical Characterization And Antimicrobial Activity Of Sidr Honey Produced By Dwarf Honey Bees (*Apis Florea F.*). *J Plant Prot Pathol.* 2019;10(12):613-619. Doi:10.21608/Jppp.2019.78154
51. Taha EKA, Al-Kahtani S, Taha R. Comparison Of The Physicochemical Characteristics Of Sidr (*Ziziphus spp.*) Honey Produced By *Apis Florea F.* And *Apis Mellifera L.* *J Apic Res.* 2021;60(3):470-477. Doi:10.1080/00218839.2020.1746036
52. Davies NM, Yanez JA. *Flavonoid pharmacokinetics Methods of Analysis, Preclinical and Clinical Pharmacokinetics, Safety, and Toxicology.* United States of America: a John Wiley & Sons Inc publication. 2013. ISBN: 9780470578711
53. Cassidy A, Minihane AM. The role of metabolism (and the microbiome) in defining the clinical efficacy of dietary flavonoids. *Am J Clin Nutr.* 2017;105(1):10-22. Doi:10.3945/ajcn.116.136051

54. Sayuti K, Yenrina R. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press;2015
55. Campbell NA, Reece JB, Mitchell LG. *Biology*. (Safitri A, Eds.). Jakarta: Erlangga; 2002
56. Kerr M.G, *Veterinary Laboratory Medicine*. 2th Ed. United Kingdom: Blackwell Science;2002.
57. Sudoyo A.W. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. 4th Ed. Jakarta: FK UI;2006.
58. Salasia, S.I.O. Dan Hariono, B. *Patologi Klinik Veteriner : Kasus Patologi Klinis. Cetakan Kedua*. Yogyakarta:Samudra Biru;2014.
59. Danise R, Dan Ferrier. *Lippincott's Illustrated Review Biokimia*. 6th Ed. (Richard AH Eds).Banten:Binarupa Aksara;2019.
60. Suckow, M.A., Weisbroth, S.H., And Franklin, C.L. *The Laboratory Rat* .2nd Edition. USA: Elsevier Inc;2006.
61. Guyton, A.C. Dan Hall, J.E. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. 11th Ed. Jakarta:EGC;2006.
62. Fischbach, F.T. And Dunning, M.B. *A Manual Of Laboratory And Diagnostic Tests*. 7th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins;2014.
63. Harahap FH. *Efek Pemberian Ekstrak Nigella Sativa Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Kolesterol Pada Tikus Diabetes Mellitus Yang Diinduksi Dengan Streptozotocin*. 2014.
64. Ramadhani FQ, Suryani D. *Perbandingan Efektivitas Hepatoprotektor Ekstrak Jintan Hitam Dan Ekstrak Temulawak Pada Kadar Sgot Dan Sgpt Tikus Yang Diinduksi Parasetamol*.JIMKI.2020(8).Vol 8 No. 2
65. Harborne, J.B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB. Halaman 59-60.1987.
66. Farnsworth, N.R. *Biological And Phytochemical Screenings Of Plant*. *J.Pharm.Sci.*,55(3);225-265.1996
67. Yelin A, Kuntadi. *Phytochemical Identification Of Honey From Several Regions In Java And Sumbawa*. *AIP Conf Proc*. 2019;2120(7):3-8. Doi:10.1063/1.5115762
68. Refdanita, Rika P, Ainun, Annisa, Sister. *Petunjuk Dan Paket Materi Praktikum Farmakologi*. *Fak Farm Inst Sains Dan Teknol Nas Jakarta*. Published Online 2018:1-50.
69. Srinivasan V, Panneerselvam R, Gunasekaran S, Palani S. *Ethanollic extract of Melia Azadirachta against acetaminophen-induced nephrotoxicity*. *Int J PharmTech Res*. 2014;6(1):70-79.
70. Wudil A, Sarki S. *The Effect Of Aqueous Stem Bark Extract Of Erythrina Mildbraedii On Acetaminophen Induced Nephrotoxicity In Rats*. *Bayero J Pure Appl Sci*. 2015;8(1):10. Doi:10.4314/Bajopas.V8i1.3

71. Gounden V, Harshil B, Ishwarlal J. *Renal function test*. StatPearls Publishing LLC. 2021;20
72. Al-Shahid FA-Z, Mohammed E, Abdel-Aal F, El-Bhairy E. The Impact Of Black Seeds And Sidr Honey On Paracetamol Induced Nephropathy In Adult Male Albino Rats, A Histological, Immunohistochemical & Ultrastructural Study. *Al-Azhar Int Med J*. 2020;0(0):0-0. Doi:10.21608/Aimj.2020.27775.1196

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Penelitian



Nomor : 1350/II.3-AU/UMSU-08/F/2021
 Lampiran : -
 Perihal : Peminjaman Tempat Penelitian

Medan, 25 Shafar 1443 H
 02 Oktober 2021 M

Kepada Yth.
 1. Kepala Bagian Farmakologi
 2. Kepala Bagian Biokimia
 3. Kepala Bagian Histologi
 Fakultas Kedokteran UMSU
 di-
 Tempat

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Sehubungan dengan surat permohonan peminjaman tempat untuk melakukan penelitian pada Laboratorium di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, yaitu :

Nama : Shinta Damayanti
 NPM : 1808260031
 Judul Penelitian : Perbandingan Efektivitas Madu Trigona Dan Madu Sidr Dikombinasikan Dengan Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Sebagai Nefroprotektor Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Parasetamol.

maka kami memberikan izin kepada yang bersangkutan, untuk melakukan penelitian di Laboratorium Farmakologi, Biokimia dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Selama proses pemakaian laboratorium, jika terdapat pemakaian alat yang rusak maka akan menjadi tanggungjawab peneliti dan pemakaian Bahan Habis Pakai (BHP) ditanggung oleh peneliti. Peneliti wajib mengikuti peraturan yang berlaku di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh



an Dekan
 an Dekan I,

 dr. Siti Masliyah Siregar, Sp.THT-KL(K)
 NIDN 0106098201

Tembusan Yth :
 1. Ketua Bagian Skripsi FK UMSU
 2. Perangsi

Lampiran 2. Perhitungan Dosis Madu Sidr, Madu Trigona dan Minyak Jintan Hitam Berdasarkan Rerata Berat Badan Tikus

Dosis Madu sidr : 1 g/KgBB

Dosis Madu Trigona : 7,4 mL/KgBB

Dosis Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) : 2 mL/KgBB

Data Berat Badan Hari ke 1 dan Dosis Rata-rata Berdasarkan Berat Badan

Kelompok	Tikus	Berat Badan (gr)	Dosis Berdasarkan Rata-rata Berat Badan (mg)
Kelompok Negatif (KN)	I	73,5	Ad Libitum
	II	119,4	
	III	104,2	
	IV	76,3	
	V	127,6	
	VI	127,7	
	VII (cadangan)	154,3	
	Rata-rata berat badan tikus	111,8	
Kelompok Positif (KP)	I	196,9	Ad Libitum
	II	191,3	
	III	192,3	
	IV	147,9	
	V	157,7	
	VI	158,7	
	VII (cadangan)	130,6	
	Rata-rata berat badan tikus	167,9	
Kelompok Perlakuan 1 (P1)	I	206,2	Madu Sidr 0,1867g + Minyak Jintan Hitam 0,3 mL
	II	192,6	
	III	188,5	
	IV	177	
	V	194	
	VI	138	
	VII (cadangan)	211,2	
	Rata-rata berat badan tikus	186,7	

(Lanjutan)

Kelompok Perlakuan 2 (P2)	I	185,9	Madu Trigona 1,68g + Minyak Jintan Hitam 0,3 mL
	II	142,2	
	III	186,2	
	IV	181,9	
	V	156	
	VI	138,4	
	VII (cadangan)	162,8	
	Rata-rata berat badan tikus	164,7	

Lampiran 3. Perhitungan Dosis Parasetamol Berdasarkan Rerata Berat Badan Tikus

Dosis Parasetamol : 2g/KgBB


Data Berat Badan tikus pada hari ke 28 dan Dosis Parasetamol Berdasarkan Rata-rata Berat Badan

Kelompok	Tikus	Berat Badan (gr)	Dosis Berdasarkan Rata-rata Berat Badan (mg)
Kelompok Negatif (KN)	I	218,5	Ad Libitum
	II	179,5	
	III	173,5	
	IV	237,2	
	V	212,7	
	VI	261,3	
	VII (cadangan)	-	
	Rata-rata berat badan tikus	213,7	
Kelompok Positif (KP)	I	225,5	455,2 mg
	II	267	
	III	222,5	
	IV	219	
	V	246,6	
	VI	185,4	
	VII (cadangan)	-	
	Rata-rata berat badan tikus	227,6	
Kelompok Perlakuan 1 (P1)	I	252	447,2 mg
	II	196,6	
	III	202,4	
	IV	254,6	
	V	204,5	
	VI	231,7	
	VII (cadangan)	-	
	Rata-rata berat badan tikus	223,6	

(Lanjutan)

Kelompok Perlakuan 2 (P2)	I	234,6	437,4 mg
	II	201,8	
	III	253,2	
	IV	191	
	V	188,4	
	VI	224,5	
	VII (cadangan)	237,4	
	Rata-rata berat badan tikus	218,7	

Lampiran 4. Ethical Clearance



UMSU
Unggul | Cerdas | Bermartabat

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
 FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
 FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
 DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
 "ETHICAL APPROVAL"
 No : 583/KEPK/FKUMSU/2021

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Shinta Damayanti
Principal In Investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan Judul
Title


"PERBANDINGAN EFEKTIVITAS MADU TRIGONA DAN MADU SIDR DIKOMBINASIKAN DENGAN MINYAK JINTAN HITAM (NIGELLA SATIVA) SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TIKUS WISTAR (RATTUS NORVEGICUS) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL"

"COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF TRIGONA HONEY AND SIDR HONEY COMBINED WITH BLACK CUMIN OIL (NIGELLA SATIVA) AS A WISTAR RAT'S (RATTUS NORVEGICUS) NEPHROPROTEKTOR INDUCED PARACETAMOL"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 04 Agustus 2021 sampai dengan tanggal 04 Agustus 2022
The declaration of ethics applies during the periode August 04, 2021 until August 04, 2022

Medan, 04 Agustus 2021
 Ketua

 Dr. dr. Nurdady MKT

Lampiran 5. Surat Izin Penelitian Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi
USU



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
FAKULTAS FARMASI

Jalan Tri Dharma No.5, Pintu 4, Kampus USU Medan 20155
Telepon: (061) 8223558 Fax. (061) 8219775
Laman: farmasi@usu.ac.id

Nomor : 3716 /UNS.2.1.11/PSS/2021

25 Oktober 2021

Perihal : Izin Pemakaian Fasilitas Laboratorium

Yth. Pimpinan Laboratorium Biologi Farmasi
Fakultas Farmasi USU
Medan

Dengan hormat, sehubungan surat Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Nomor 1447/II.3-AU/UMSU-08/D/2021 tanggal 18 Oktober 2021 tentang Izin Penelitian di Laboratorium bagi mahasiswa:

Nama : Shinta Damayanti
NIM : 1808260031
Instansi/Fakultas : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Judul Penelitian : "Perbandingan Efektivitas Madu Trigona dan Madu Sidr Dikombinasikan dengan Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa oil*) sebagai Nefroprotektor Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Parasetamol".

Berkenaan dengan hal tersebut diatas, kami mohon kiranya Saudara dapat memberi izin pemakaian fasilitas di laboratorium yang Saudara pimpin (sub laboratorium fitokimia) kepada mahasiswa tersebut diatas untuk melakukan penelitian. Bersama ini kami beritahukan apabila terjadi kerusakan alat selama penelitian menjadi tanggung jawab peneliti.

Selanjutnya kami minta kepada Saudara agar mengirimkan kepada kami surat keterangan bebas biaya administrasi penelitian bagi mahasiswa tersebut yang telah selesai melaksanakan penelitian dengan menggunakan fasilitas laboratorium yang Saudara pimpin.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan bantuan Saudara diucapkan terima kasih.



Hari Ronaldo Tanjung, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP 197803142005011002

Tembusan:

1. Dekan Fakultas Farmasi USU;
2. Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran UMSU;

Lampiran 6. Hasil Uji Fitokimia



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
 UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
 FAKULTAS FARMASI
 LABORATORIUM BIOLOGI FARMASI
 Jalan Tri Dharma No.5, Pintu 4, Kampus USU Medan 20155
 Telepon (061) 8223558; Faksimile (061) 8219775
 E-mail : farmasi@usu.ac.id

Medan, 21 Oktober 2021

HASIL PEMERIKSAAN

Nama : Shinta Damayanti
 NIM : 1808260031
 Instansi/Fakultas/Prodi : Universitas Muhammad Sumatera Utara /Kedokteran/
 Sarjana kedokteran
 Nama Sampel : Minyak Jintan Hitam, Madu Sidr, dan Madu Trigona
 Jenis Pemeriksaan : Uji Fitokimia
 Hasil Pemeriksaan :

No	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil		
			Minyak Jintan Hitam	Madu Sidr	Madu trigona
1	Alkaloid	Dragendroff Bouchardat Meyer	- - -	- - -	- - -
2	Flavonoid	Serbuk Mg+ Amil Alkohol + HCl _p	+	+	+
3	Glikosida	Molish+H ₂ SO ₄	+	+	+
4	Saponin	Air panas/dikocok	-	-	-
5	Tanin	FeCl ₃	+	-	-
6	Triterpenoid/Steroid	Lieberman-Bourchat	+	+	+

Ket: (+) = terdapat senyawa
 (-) = tidak terdapat senyawa

Kepala Laboratorium Biologi
 Fakultas Farmasi USU

 Imam Bagus Somantri, S.Farm., M.Si., Apt
 NIP 19821224014041001

Lampiran 7. Surat Izin Penelitian Kepada UPT Laboratorium Kesehatan Daerah



Nomor : 1304 /II.3-AU/UMSU-08/A/2021
 Lamp. : -
 Hal : **Mohon Izin Penelitian**

Medan, 16 Safar 1443 H
 24 September 2021 M

Kepada : Yth. Kepala UPT Laboratorium Kesehatan Daerah
 Sumatera Utara
 di
 Tempat

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Dengan hormat, dalam rangka penyusunan Skripsi mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (FK UMSU) Medan, maka kami mohon bantuan Bapak/Ibu untuk memberikan informasi, data dan fasilitas seperlunya kepada mahasiswa kami yang akan mengadakan penelitian sebagai berikut :

N a m a : Shinta Damayanti
 NPM : 1808260031
 Semester : VI (Enam)
 Fakultas : Kedokteran
 Jurusan : Pendidikan Dokter
 Judul : Perbandingan Efektivitas Madu Trigona Dan Madu Sidr Dikombinasikan Dengan Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Sebagai Nefroprotektor Tikus Wistar (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Parasetamol

Demikianlah hal ini kami sampaikan, atas kerjasama yang baik kami ucapkan terima kasih. Semoga amal kebaikan kita diridhai oleh Allah SWT. Amin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb



Hormat kami,
 An. Dekan
 Wak. Dekan I,

 dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL(K)
 NIDN : 0106098201


Tembusan :

1. Wakil Rektor I UMSU
2. Ketua Skripsi FK UMSU
3. Pertinggal

Lampiran 8. Hasil Pemeriksaan Kadar BUN dan Kreatinin

No	Kode Sampel	Ureum (mg/dl)	Creatinin (mg/dl)
1.	KN.1.	24	0.23
	2.	28	0.21
	3.	36	0.28
	4.	18	0.17
	5.	15	0.18
	6.	21	0.21
2.	KP.1	54	1.38
	2.	59	0.91
	3.	54	0.89
	4.	44	1.05
	5.	42	0.91
	6.	38	1.18
3.	P1.1.	44	0.33
	2.	39	0.35
	3.	36	0.20
	4.	18	0.25
	5.	15	0.28
	6.	49	0.29
4.	P2.1	49	0.41
	2.	43	0.29
	3.	21	0.38
	4.	28	0.55
	5.	35	0.29
	6.	53	0.18
	7.	42	0.27

Medan, 06 Desember 2021
Penanggung Jawab Lab. Klinis


Dr. LISDAYANI
NIP. 19680823 200209 2 001

No. 31.22/FPP Halaman 1 dari 1

Lampiran 9. Dokumentasi



Madu Sidr, Madu Trigona dan Minyak Jintan Hitam



Pembagian Kelompok Penelitian



Adaptasi Hewan Coba



Penomoran Tikus

(Lanjutan)



Pemberian Makan Pada Hewan
Coba



Penimbangan Berat Badan tikus



Pembuatan Parasetamol dalam
bentuk Puyer



Parasetamol



Pemberian Perlakuan pada Hewan
Coba



Pembedahan Tikus

(Lanjutan)



Pengambilan Darah melalui Jantung



Tabung Darah

Lampiran 10. Proses Data SPSS

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
Kreatinin	KN	.200	6	.200*	.929	6	.573
	KP	.269	6	.200*	.853	6	.167
	P1	.142	6	.200*	.974	6	.917
	P2	.170	6	.200*	.976	6	.928

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
jumlah	Based on Mean	2.099	3	20	0.132
	Based on Median	1.960	3	20	0.152
	Based on Median and with adjusted df	1.960	3	14.855	0.164
	Based on trimmed mean	2.092	3	20	0.133

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah

	(I) Kreatinin serum	(J) Kreatinin serum	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	KN	KP	-0.69356*	0.06321	0.000	-0.8786	-0.5085
		P1	-0.12201	0.06321	0.407	-0.3070	0.0630
		P2	-0.19049*	0.06321	0.041	-0.3755	-0.0055
	KP	KN	0.69356*	0.06321	0.000	0.5085	0.8786
		P1	0.57155*	0.06321	0.000	0.3865	0.7566
		P2	0.50308*	0.06321	0.000	0.3181	0.6881
	P1	KN	0.12201	0.06321	0.407	-0.0630	0.3070
		KP	-0.57155*	0.06321	0.000	-0.7566	-0.3865
		P2	-0.06848	0.06321	1.000	-0.2535	0.1165
	P2	KN	0.19049*	0.06321	0.041	0.0055	0.3755
		KP	-0.50308*	0.06321	0.000	-0.6881	-0.3181
		P1	0.06848	0.06321	1.000	-0.1165	0.2535

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(Lanjutan)

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ureum	KN	.149	6	.200 [*]	.963	6	.841
	KP	.247	6	.200 [*]	.918	6	.488
	P1	.238	6	.200 [*]	.893	6	.334
	P2	.152	6	.200 [*]	.961	6	.824

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Ureum		Levene	df1	df2	Sig.
		Statistic			
Ureum	Based on Mean	1.732	3	20	.193
	Based on Median	.952	3	20	.435
	Based on Median and with adjusted df	.952	3	12.174	.446
	Based on trimmed mean	1.678	3	20	.204

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ureum

	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Bonferroni	KN	KP	-24.833 [*]	6.281	.005	-43.22	-6.45
		P1	-9.833	6.281	.799	-28.22	8.55
		P2	-14.500	6.281	.191	-32.89	3.89
	KP	KN	24.833 [*]	6.281	.005	6.45	43.22
		P1	15.000	6.281	.161	-3.39	33.39
		P2	10.333	6.281	.693	-8.05	28.72
	P1	KN	9.833	6.281	.799	-8.55	28.22
		KP	-15.000	6.281	.161	-33.39	3.39
		P2	-4.667	6.281	1.000	-23.05	13.72
	P2	KN	14.500	6.281	.191	-3.89	32.89
		KP	-10.333	6.281	.693	-28.72	8.05
		P1	4.667	6.281	1.000	-13.72	23.05

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

(lanjutan)

II. Riwayat Pendidikan

1. TK Dahlia Tapung Lestari, Kampar-Riau
2. SD Negeri 016 Tapung lestari, Kampar-Riau
3. SMP Negeri 02 Tapung Hilir, Kampar-Riau
4. SMA Negeri 02 Tapung Hilir, Kampar-Riau
5. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Lampiran 12. Artikel Publikasi

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS MADU TRIGONA DAN MADU SIDR
DİKOMBINASIKAN DENGAN MINYAK JINTAN HITAM (*NIGELLA
SATIVA*) SEBAGAI NEFROPROTEKTOR TIKUS WISTAR (*RATTUS
NORVEGICUS*) YANG DIINDUKSI PARASETAMOL**

Shinta Damayanti¹, Des Suryani²

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

²Departemen Histologi, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Korespondensi : Des Suryani
Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

ABSTRAK

Latar Belakang : Parasetamol adalah salah satu obat analgetik-antipiretik yang paling umum digunakan di seluruh dunia. Penggunaan dengan dosis toksik dapat menimbulkan kerusakan ginjal. Minyak jintan hitam dan madu digunakan sebagai obat untuk berbagai masalah kesehatan. madu trigona adalah madu multiflora dan madu sidr merupakan madu monoflora yang telah diolah dengan lebih baik dan diimpor dari luar negeri dengan harga yang mahal. **Tujuan:** membandingkan efektivitas minyak jintan hitam ditambah madu trigona dengan minyak jintan hitam ditambah madu sidr terhadap fungsi ginjal tikus yang diinduksi parasetamol. **Metode:** penelitian eksperimental dengan rancangan posttest only with controlled group design. Sebanyak 4 kelompok diberi perlakuan selama 28 hari. Uji kadar Ureum dan Kreatinin dilakukan. Analisis data menggunakan *one way ANOVA post hoc bonferroni*. **Hasil:** Terdapat pengaruh pemberian parasetamol dosis tunggal 2 g/KgBB pada fungsi ginjal tikus ditandai dengan peningkatan kadar Ureum dan kreatinin pada kelompok KP, tidak terdapat perbedaan signifikan pemberian minyak jintan hitam dosis 2 ml/kgBB ditambah madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB dan minyak jintan hitam dosis 2 ml/kgBB ditambah madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgBB selama 28 hari terhadap ginjal tikus yang telah diinduksi parasetamol ($p>0,05$). **Kesimpulan:** Pemberian parasetamol memiliki pengaruh terhadap kerusakan ginjal tikus. Serta pemberian minyak jintan hitam ditambah madu dibandingkan dengan minyak jintan hitam ditambah madu trigona memiliki efek nefroprotektif yang sama.

Kata kunci: *Ginjal, kreatinin, madu sidr, madu trigona, minyak jintan hitam, parasetamol, ureum*

Korespondensi: Des Suryani, FK UMSU, E-mail: dessuryani@umsu.ac.id

COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF TRIGONA HONEY AND SIDR HONEY COMBINED WITH BLACK CUMIN OIL (*NIGELLA SATIVA*) AS A NEPHROPROTECTOR OF WISTAR RATS (*RATTUS NORVEGICUS*) INDUCED BY PARACETAMOL

Shinta Damayanti¹, Des Suryani²

¹*Faculty of Medicine, Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

²*Departement of Histology, Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

*Corresponding Author : Des Suryani
Muhammadiyah University of Sumatera Utara*

ABSTRACT

Background: Paracetamol is one of the most commonly used analgesic-antipyretic drugs worldwide. Use with toxic doses can cause kidney damage. Black cumin oil and honey are used as medicine for various health problems. Trigona honey is a multiflora honey and Sidr honey is a monoflora honey which have been processed better, and imported from abroad at high prices. **Objective:** To compare the effectiveness of black cumin oil plus trigona honey with black cumin oil plus sidr honey on rats' kidney function induced by paracetamol. **Methods:** experimental research with posttest only with controlled group design. A total of 4 groups were treated for 28 days. Urea and Creatinine levels were tested. Data analysis used *one-way ANOVA post hoc Bonferroni*. **Results:** There was an effect of giving a single dose of paracetamol 2 g/kg BW on kidney function of rats characterized by increased levels of urea and creatinine in the KP group, there was no significant difference in giving black cumin oil at a dose of 2 ml/kg BW plus sidr honey at a dose of 1 g/kg BW and black cumin oil at a dose of 2 ml/kg BW plus trigona honey at a dose of 7.4 ml/kg BW for 28 days on the kidneys of rats that had been induced by paracetamol ($p>0.05$). **Conclusion:** Giving paracetamol affects kidney damage in rats. And the administration of black cumin oil plus honey compared to black cumin oil plus trigona honey had the same nephroprotective effect.

Keywords: *Black cumin oil, creatinine, kidney, paracetamol, sidr honey, trigona honey, urea*

Correspondence: Des Suryani, Medicine Faculty Of Muhammadiyah University of Sumatera Utara, E-mail: dessuryani@umsu.ac.id

PENDAHULUAN

Parasetamol (*acetaminophen*) adalah salah satu obat analgesik-antipiretik yang paling umum digunakan di seluruh dunia. Salah satu obat yang dapat menimbulkan kerusakan ginjal adalah parasetamol dengan dosis toksik.¹ Kerusakan fungsi ginjal yang diakibatkan oleh parasetamol yaitu kerusakan tubular akut yang merupakan salah satu penyebab utama gagal ginjal akut. Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serum dapat menjadi indikator nekrosis tubular akut yang disebabkan oleh parasetamol.² Sebagian besar penelitian menggunakan dosis tunggal parasetamol kisaran 600 mg/kg hingga 2000 mg/kg yang diberikan secara oral atau intraperitoneal (IP) untuk menginduksi terjadinya toksisitas.²⁻⁴ nefrotoksitas juga dapat diinduksi dengan dosis yang lebih rendah kisaran 200 mg/kg hingga 500 mg/kg tetapi pemberian secara berulang.⁵⁻⁷

Nigella sativa adalah tanaman herbal yang sudah digunakan sebagai obat tradisional sejak 2000 tahun yang lalu dan memiliki potensi farmakologi yang luas seperti immunomodulator, analgetik, antimikroba, antiinflamasi dan spasmolitik. *Nigella sativa* juga sering digunakan sebagai obat untuk berbagai masalah kesehatan seperti sistem pernafasan, sistem pencernaan, fungsi ginjal dan hati, sistem kardiovaskular sistem imun dan penurunan kadar gula darah.^{2,8} *Nigella sativa* mengandung banyak komponen aktif terutama *thymoquinone* yang memiliki manfaat untuk mengatasi toksisitas yang disebabkan bahan kimia.⁹

Berbagai penelitian telah membuktikan efek nefroprotektif minyak jintan hitam namun dosisnya bervariasi, dalam kisaran 1 ml/kgBB/hari sampai 5 ml/kgBB/hari. Percobaan pada pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 5 ml/kg memiliki efek pencegahan maksimal terhadap nefrotoksitas dengan hasil kadar BUN dan kreatinin serum ditemukan lebih rendah jika dibandingkan pada pemberian pada dosis 1 ml/kgBB/hari.^{10,11} Namun pada penelitian lain, pemberian minyak jintan hitam dengan dosis yang lebih tinggi yaitu 25 ml/kg/hari pada tikus albino selama 1 bulan ditemukan kerusakan dari korteks ginjal tikus.¹²

Madu adalah cairan dengan berbagai manfaat yang disiapkan oleh lebah dari nektar berbagai tanaman. Madu sangat umum digunakan sebagai obat herbal di seluruh dunia untuk berbagai masalah kesehatan.¹³ Penelitian terdahulu yang menggunakan madu sebagai nefroprotektor dengan dosis yang berbeda-beda yaitu dosis 6,5% v/v selama 15 hari, dosis 1183 mg/kg selama 8 minggu, dosis 20 mg/kgBB dua kali sehari selama 10 minggu dan dosis 2 g/kgBB selama 8 minggu.¹³⁻¹⁶

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji efektivitas nefroprotektor kombinasi minyak jintan hitam dan madu dengan dosis minyak jintan hitam 2 mL/kgBB/hari dan madu murni sidr Arab Saudi diperoleh dari Pegunungan Hadramaut, Yaman dosis 1 g/kgBB/hari yang dilarutkan dalam *distilled water* selama 4 minggu pada tikus yang diinduksi parasetamol memberikan efek nefroprotektor

dengan adanya penurunan kadar BUN dan kreatinin serum tikus.¹⁷ dan pada penelitian lain menyatakan bahwa kombinasi minyak jintan hitam dosis 2 mL/kgBB/hari dan madu trigona yang diperoleh dari Paloh, Sambas, Kalimantan Barat dosis 7,4 mL/kgBB/hari selama 21 hari pada tikus yang diinduksi cisplatin efektif dalam menurunkan level lipid peroksidase dengan adanya penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA) tikus.¹⁸ Berdasarkan Perbedaan dosis dan perbedaan madu yang digunakan untuk dikombinasikan dengan minyak jintan hitam, kedua penelitian tersebut sama-sama mendapatkan hasil yang efektif terhadap nefroprotektor. Selain itu, berdasarkan hasil studi madu sidr dan madu trigona memiliki perbedaan yang nyata dimana madu sidr merupakan madu monoflora yang memiliki kualitas baik karena sudah memenuhi standarisasi dari International Honey Commission (IHC) sedangkan madu trigona adalah madu multiflora. Madu ini belum masuk kualifikasi IHC karena memiliki kadar air yang tinggi. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin mengetahui apakah penggunaan madu trigona lebih efektif dibandingkan dengan madu sidr sebagai kombinasi minyak jintan hitam terhadap nefroprotektor tikus wistar yang diinduksi parasetamol.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan teknik eksperimental dengan rancangan *posttest only with controlled group design*, menggunakan hewan coba sesuai persetujuan dari Komisi Etik

Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara No.583/KEPK/FKUMSU/2021 untuk menggunakan hewan sebagai subjek penelitian, dimana sampel yang merupakan dua puluh delapan ekor tikus jantan wistar yang dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri dari tujuh ekor tikus. Masing-masing kandang yang terbuat dari bahan plastik berisi empat ekor tikus. Semua tikus diberi pakan dan minum *ad libitum*. Pada bagian dasar kandang diberi sekam untuk menjaga suhu tetap optimal, kandang diletakkan dalam ruangan dengan suhu 25°C dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap.

Sebelum penelitian dimulai, tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Selanjutnya diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 28 hari. Kemudian pada hari ke 28 diberikan parasetamol oral dosis toksik 2 g/kgBB kemudian tikus-tikus dipuasakan dalam semalam, setelah itu dilakukan pengambilan darah untuk dilakukan pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin serum.

Adapun kriteria inklusi:

1. Tikus jantan yang sehat dan aktif bergerak
2. Umur 8-12 minggu
3. Berat badan 150-200 g
4. Tidak tampak kelainan anatomi
5. Belum pernah digunakan sebagai subjek penelitian sebelumnya

Sedangkan kriteria eksklusi:

1. Timbul kecacatan fisik (luka dan atau patah tulang) selama masa percobaan
2. Tikus yang sakit
3. Tikus mati saat proses adaptasi

Besar sampel penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus federer dan didapatkan hasil $n=6$. Kelompok kontrol negatif (KN) hanya diberikan diet standar, kelompok kontrol positif (KP) diberi diet standar dan diberikan parasetamol 2 g/kgBB pada hari ke 28 penelitian, kelompok perlakuan 1 (P1) diberi diet standar ditambahkan minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB, ditambahkan madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB/hari selama 28 hari dan ditambah pemberian parasetamol 2 g/kgBB pada hari ke 28 penelitian. Dan kelompok perlakuan 2 (P2) diberi diet standar ditambahkan minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB, ditambahkan madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgbb/hari selama 28 hari dan ditambah pemberian parasetamol 2 g/kgBB pada hari ke 28 penelitian.

Perlakuan ini dimulai dengan adaptasi selama 7 hari dan penelitian dilakukan selama 28 hari untuk seluruh kelompok penelitian. Setelah itu pada hari ke 29 dilakukan dekapitasi leher dan diambil darah melalui jantung tikus kemudian pemeriksaan sampel dilakukan untuk mengukur kadar Ureum dan Kreatinin tikus di Laboratorium Kesehatan Daerah Sumatera Utara.

Penelitian ini dilakukan di Unit Pengelola Hewan Laboratorium (UPHL) Departemen Farmakologi

Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Jl. Gedung Arca No.53 Medan, Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi USU dan UPT Laboratorium Kesehatan Daerah. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai November tahun 2021. Penelitian ini dilakukan pada masa pandemi dimana peraturan hanya terdapat 3 orang di dalam laboratorium.

Data rerata Ureum dan Kreatinin masing-masing kelompok dianalisis dengan menggunakan program SPSS (*Statistic package for social and science*) versi 25.0. pertama data diuji normalitas menggunakan *Shapiro wilk*. Data berdistribusi normal, maka di analisis dengan *one way ANOVA* dan data bersifat homogen dilanjutkan dengan *uji post hoc Bonferroni*.

HASIL PENELITIAN

Penelitian terdiri dari empat kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (KN), kelompok kontrol positif (KP), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2).

Bahan uji berupa minyak jintan hitam, madu trigona dan madu sidr yang sudah teregistrasi BPOM yang diperoleh dari toko *online* telah dilakukan uji fitokimia.

Hasil uji fitokimia minyak jintan hitam

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Minyak Jintan Hitam, Madu Sidr dan Madu Trigona secara Kualitatif

NO	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil Pengujian		
			Minyak Jintan Hitam	Madu Sidr	Madu Trigona
1	Alkaloid	Dragendorff	-	-	-
		Bouchardat	-	-	-
		Meyer	-	-	-
2	Flavonoid	Serbuk Mg + Amil Alkohol + HCL _p	+	+	+
3	Glikosida	Molisch + H ₂ SO ₄	+	+	+
4	Saponin	Air panas / dikocok	-	-	-
5	Tanin	FeCl ₃	+	-	-
6	Triterpenoid/ Steroid	Lieberman-Bourchat	+	+	+

Hasil pengukuran kadar fungsi ginjal tikus pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel dibawah ini

Tabel 2 Rerata kadar Ureum dan Kreatinin pada kelompok penelitian

Rerata ± s.d	Kelompok			
	KN(n=6)	KP(n=6)	P1(n=6)	P2(n=6)
Ureum	23.6 ± 7.55	48.5 ± 8.28	33.5 ± 13.9	38.17 ± 12.4
Kreatinin	0.21 ± 0.39	1.05 ± 0.19	0.28 ± 0.05	0.34 ± 0.12

Dari tabel 2 di atas, menunjukkan bahwa parasetamol dapat meningkatkan kadar Ureum dua kali lipat lebih tinggi dari nilai normal yang menunjukkan adanya gangguan fungsi ginjal. Dilihat dari rata-rata ureum dan kreatinin didapatkan nilai yang paling mendekati normal adalah pada kelompok madu sidr ditambah jintan hitam.

ANOVA didapatkan hasil pada Ureum $p=0,007$, Kreatinin $p=0,00$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan diantara keempat kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda maka dilanjutkan ke uji *post hoc Bonferroni*.

ANALISIS DATA

Setelah dilakukan pengujian data didapatkan data berdistribusi normal dan mempunyai varian yang homogen, maka akan dilanjutkan uji *one-way ANOVA* dengan *post hoc Bonferroni*. Dari hasil uji *one-way*

Tabel 3 Hasil *Uji Bonferroni* kadar Ureum kelompok KN,KP,P1 dan P2

Kelompok	Sig.	P	Kemaknaan
KN vs KP	0.005	= 0.05	Signifikan
KN vs P1	0.799	> 0.05	Tidak Signifikan
KN vs P2	0.191	> 0.05	Tidak Signifikan
KP vs P1	0.161	> 0.05	Tidak Signifikan
KP vs P2	0.693	> 0.05	Tidak Signifikan
P1 vs P2	1	> 0.05	Tidak Signifikan

Dari tabel 3 di atas didapatkan hasil yang signifikan antara KN dan KP menunjukkan bahwa parasetamol dapat menyebabkan peningkatan pada kadar ureum dan terjadi gangguan fungsi ginjal. Belum

terlihat efek protektor yang maksimal baik pemberian minyak jintan hitam ditambahkan madu sidr maupun minyak jintan hitam ditambahkan madu trigona.

Tabel 4 Hasil *Uji Bonferroni* kadar Kreatinin kelompok KN,KP,P1 dan P2

Kelompok	Sig.	P	Kemaknaan
KN vs KP	0.000	< 0.05	Signifikan
KN vs P1	0.407	> 0.05	Tidak Signifikan
KN vs P2	0.041	< 0.05	Signifikan
KP vs P1	0.000	< 0.05	Signifikan
KP vs P2	0.000	< 0.05	Signifikan
P1 vs P2	1	> 0.05	Tidak Signifikan

Dari tabel 4 di atas diatas didapatkan hasil yang signifikan antara KN vs KP menunjukkan bahwa parasetamol dapat menyebabkan peningkatan pada kadar kreatinin dan terjadi gangguan fungsi ginjal. Dan pada KN vs P1 yang tidak signifikan, menunjukan bahwa efek protektifnya bisa mencapai nilai normal, sedangkan KN vs P2 yang signifikan menunjukkan nilai efek protektif madu trigona lebih rendah dari madu sidr, namun jika dibandingkan antara P1 dan P2 efek protektifnya tidak signifikan, dengan demikian efek protektif antara minyak jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak

jintan hitam ditambah madu trigona adalah sama.

PEMBAHASAN

Ginjal adalah organ penting yang berperan dalam manusia dan hewan. Fungsi umum ginjal adalah untuk mengatur tekanan darah, keseimbangan asam-basa, keseimbangan elektrolit dan ekstraselular volume cairan. Ginjal juga menghilangkan zat-zat dari tubuh termasuk produk metabolisme, berbagai racun dan zat asing lainnya seperti obat-obatan, pestisida dan bahan tambahan makanan.^{19,20}

Pada penelitian ini diamati aktivitas nefroprotektor pemberian minyak jintan hitam ditambah madu

sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona terhadap rerata nilai ureum dan kreatinin serum akibat paparan parasetamol. Penggunaan parasetamol dosis toksik berperan dalam merusak sel hepar, hepatotoksik yang disebabkan parasetamol dapat memicu terjadinya nefrotoksik dan insufisiensi ginjal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed Abdeen, dkk yang mengatakan bahwa Parasetamol dosis 2g/KgBB dosis tunggal peroral menyebabkan ginjal kerusakan diakibatkan dari akumulasi yang tinggi dari hasil Metabolit toksik APAP yaitu NAPQI. Toksisitas Ginjal yang diinduksi NAPQI dimediasi oleh stres oksidatif yang terjadi karena peningkatan pembentukan ROS yang mengoksidasi molekul makromol seluler yang mengarah ke induksi peroksidasi lipid, oksidasi protein, disfungsi mitokondria, dan kerusakan DNA.²

Pada hasil penelitian ini, dilihat dari rata-rata nilai ureum yang mendapat pengaruh dari pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB (P1) tampak lebih baik dibandingkan dengan pemberian minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgBB (P2), walaupun hasilnya belum bisa mencapai kadar nilai normal dari fungsi ginjal. Pada tabel 2 nilai ureum lebih rendah pada kelompok P1 namun efek protektif ini belum bisa dikatakan yang paling efektif. Sedangkan pada kadar kreatinin kelompok P1 dan P2 dalam rentang nilai normal, Namun saat dilakukan pengujian dengan uji statistik *One*

Way Anova terhadap kadar ureum dan kreatinin kelompok P1 dan P2, didapatkan perbedaan yang tidak signifikan sehingga dapat dikatakan bahwa kedua kelompok perlakuan tersebut memiliki efektivitas yang sama .

Penelitian ini juga sesuai dengan penelitian lain yang dilakukan oleh mohamed abdelmohsen abdallah, dkk menyatakan bahwa pemberian parasetamol dengan dosis 1g/KgBB per oral dan diberikan minyak jintan hitam 2 ml/KgBB ditambah madu sidr 1g/KgBB adalah konsentrasi paling efektif dalam menurunkan enzim hati, meningkatkan fungsi ginjal, meningkatkan total antioksidative capacity dan Fas ligand jaringan.¹⁷ Penelitian lain yang sejalan dinyatakan oleh Fatma Al-Zahra, dkk tetapi cara pemberian dan jumlah dosis parasetamol yang berbeda menyatakan bahwa pemberian parasetamol dengan dosis tunggal 600/KgBB secara intraperitoneal menyebabkan penurunan kadar glutathion dalam sitoplasma dan mitokondria sehingga terjadi akumulasi radikal bebas, peroksidasi lipid, peningkatan malondialdehid yang mengakibatkan nefrotoksistas. Tetapi pada perlakuan yang diberikan jintan hitam 1g/KgBB ditambah madu sidr 1g/KgBB menunjukkan gambaran histologi , kadar ureum dan kreatinin yang hampir normal.²¹

Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Rita Noviana, dkk yang menyatakan bahwa pemberian dosis minyak jintan hitam 2 ml/KgBB ditambah madu trigona 7.4ml/KgBB menunjukkan peningkatan paling besar terhadap

antioksidan capacity dan meningkatkan efek sinergis paling baik dalam menurunkan inflamasi dan stres oksidatif serta menghambat aktivasi *Nuclear factor kappa B (NF- κ B)* ditandai dengan peningkatan level serum GSH dan penurunan level serum MDA di ginjal.¹⁸

Pada penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu sidr dengan dosis 1 g/kgBB selama 28 hari dibandingkan dengan minyak jintan hitam dengan dosis 2 ml/kgBB ditambah madu trigona dengan dosis 7,4 ml/kgBB selama 28 hari memiliki efektivitas protektif yang sama. Namun, efek protektif belum mencapai nilai sempurna pada penelitian ini, mungkin jika dilakukan peningkatan dosis madu sidr ataupun menurunkan dosis madu trigona akan menunjukkan hasil yang lebih efektif lagi, dan juga diperlukan kajian fitokimia terhadap minyak jintan hitam, madu sidr dan madu trigona untuk menentukan dosis dan jenis madu yang paling efektif. Pada penelitian ini hanya melakukan analisis fitokimia secara kualitatif dan ternyata terdapat persamaan kandungan madu sidr dan madu trigona, sehingga untuk penelitian selanjutnya untuk mengetahui berapa kadar sebenarnya dari masing masing madu perlu dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan uji HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Keterbatasan dalam penelitian adalah penggunaan dosis yang terfokus pada penelitian sebelumnya saja sehingga dosis minyak jintan

hitam serta dosis madu yang digunakan pada penelitian ini kurang bervariasi.

KESIMPULAN

1. Pemberian parasetamol dengan dosis toksik dosis tunggal telah menunjukkan adanya kerusakan pada ginjal tikus.
2. Minyak jintan hitam ditambah madu sidr memiliki efek nefroprotektor.
3. Minyak jintan hitam ditambah madu trigona memiliki efek nefroprotektor.
4. Pemberian minyak jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona memiliki efektifitas yang sama.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya mengenai perbandingan pengaruh pemberian minyak jintan hitam ditambah madu sidr dan minyak jintan hitam ditambah madu trigona dengan dosis yang lebih bervariasi.
2. Perlu dilakukan identifikasi kuantitatif dari zat aktif yang terdapat pada minyak jintan hitam, madu sidr dan madu trigona sehingga dapat menentukan dosis dan jenis madu yang tepat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Conaghan PG, Arden N, Avouac B, Migliore A, Rizzoli R. Safety Of Paracetamol In Osteoarthritis: What Does The Literature Say? *Drugs And Aging*. 2019;36(S1):7-14. Doi:10.1007/S40266-019-00658-9

2. Canayakin D, Bayir Y, Kilic Baygutalp N, Sezen Karaoglan E, Tarik Atmaca H, Sait Keles M, Et Al. Paracetamol-Induced Nephrotoxicity And Oxidative Stress In Rats: The Protective Role Of Nigella Sativa. *Pharm Biol.* 2016;54(10):2082-2091. Doi:10.3109/13880209.
3. Abdeen A, Abdelkader A, Abdo M, Wareth G, Aboubakr M, Aleya L, Et Al. Protective Effect Of Cinnamon Against Acetaminophen-Mediated Cellular Damage And Apoptosis In Renal Tissue. *Environ Sci Pollut Res.* 2019;26(1):240-249. Doi:10.1007/S11356-018-3553-2
4. Moshaiie-Nezhad P, Hosseini SM, Yahyapour M, Iman M, Khamesipoure A. Protective Effect Of Ivy Leaf Extract On Paracetamol-Induced Oxidative Stress And Nephrotoxicity In Mice. *J Herbmед Pharmacol.* 2019;8(1):64-68. Doi:10.15171/Jhp.2019.11.
5. Hegazy MGA, Emam MA, Khattab HI, Helal NM. Biological Activity Of Echinops Spinous On Inhibition Of Paracetamol-Induced Renal Inflammation. *Biochem Cell Biol.* 2019;97(2):176-186. Doi:10.1139/Bcb-2018-0212.
6. Chinnappan SM, George A, Thaggikuppe P, Choudhary Y, Choudhary V, Ramani Y, Et Al. Nephroprotective Effect Of Herbal Extract Eurycoma Longifolia On Paracetamol-Induced Nephrotoxicity In Rats. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2019. Doi:10.1155/2019/4916519
7. Febilani E, Berata IK, Samsuri, Merdana IM, Sudimartini LM. Pengaruh Pemberian Propolis Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih Yang Diberikan Parasetamol Dosis Tinggi. *Bul Vet Udayana.* 2017;9(1):9-15. Doi:10.21531/Bulvet.2017.9.1.9
8. Yenita Y. Uji Efektivitas Pemberian Minyak Jintan Hitam (Nigella Sativa L.) Terhadap Kadar Gula Darah Mencit Diabetes Melitus Yang Diberi Aloksan, *Buletin Farmatera.* 2017;2(2):101-115
9. Tavakkoli A, Mahdian V, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Review On Clinical Trials Of Black Seed (Nigella Sativa) And Its Active Constituent, Thymoquinone. *J Pharmacopuncture.* 2017;20(3):179-193. Doi:10.3831/KPI.2017.20.021
10. Benhelima A, Omar ZK, Hemida H, Benmahdi T, Addoud A. Nephroprotective And Diuretic Effect Of Nigella Sativa L Seeds Oil On Lithiasic Wistar Rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2016;13(6): 204-214.
11. Hasan M, Khan R, Nasiruddin M, Khan A. Ameliorative Effect Of Nigella Sativa Oil Against Paracetamol Induced Hepatic And Renal Damages In Rats. *Br J Pharm Res.* 2016;13(3):1-10. Doi:10.9734/Bjpr/2016/27597.
12. Arawwawala M, Hewageegana Sujatha. Health Benefits And Traditional Uses Of Honey: A Review. *J Apitherapy.* 2017;2(1):9. Doi:10.5455/Ja.20170208043727
13. Purnamasari P, Purnawati RD, Susilaningsih N. Pengaruh

- Ekstrak Daun Sukun Dan Madu Terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal Tikus Wistar Yang Diinduksi Dietilnitrosamin. Diponegoro Med J. 2018;7(2):1391-1405.
14. Mamada SS, Usmar U, Aliyah A, Aminulah, Rahayu AI, Hidayat H, Et Al. Pengaruh Suplementasi Madu Trigona Terhadap Parameter Fungsi Hati Dan Ginjal Tikus Albino (*Rattus Norvegicus*) Yang Diberikan Simvastatin. *J Farm Galen*. 2018;4(1):36-43. Doi:10.22487/J24428744.2018.V 4.II.9960
 15. Yazan LS, Firdaus M, Muhamad S, Ali R, Zainal NA, Esa N, Et Al. Chemopreventive Properties And Toxicity Of Kelulut Honey In Sprague Dawley Rats Induced With Azoxymethane. Hindawi Publishing Corporation. 2016;2016. Doi:10.1155/2016/4036926.
 16. Ibrahim A, Eldaim MAA, Abdel-Daim MM. Nephroprotective Effect Of Bee Honey And Royal Jelly Against Subchronic Cisplatin Toxicity In Rats. *Cytotechnology*. 2016;68(4):1039-1048. Doi:10.1007/S10616-015-9860-2
 17. Abdallah MA, Zayed MA, Kelany ME. Antioxidant And Antiapoptotic Effects Of Combined Sidr Honey And Nigella Sativa Oil Against Paracetamol-Induced Hepatonephrotoxicity In Rats. *Vol J. ZUMJ*. 2016;22(1).
 18. Noviana R, In M, Handini M. Synergistic Protective Effect Of Commercial Nigella Sativa Oil And Honey Combination Against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity In Rats. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*.2020;57-65.
 19. Srinivasan V, Panneerselvam R, Gunasekaran S, Palani S. Ethanolic extract of *Melia Azadirachta* against acetaminophen-induced nephrotoxicity. *Int J PharmTech Res*. 2014;6(1):70-79.
 20. Wudil A, Sarki S. The Effect Of Aqueous Stem Bark Extract Of *Erythrina Mildbraedii* On Acetaminophen Induced Nephrotoxicity In Rats. *Bayero J Pure Appl Sci*. 2015;8(1):10. Doi:10.4314/Bajopas.V8i1.3
 21. Al-Shahid FA-Z, Mohammed E, Abdel-Aal F, El-Bhairy E. The Impact Of Black Seeds And Sidr Honey On Paracetamol Induced Nephropathy In Adult Male Albino Rats, A Histological, Immunohistochemical & Ultrastructural Study. *Al-Azhar Int Med J*. 2020;0(0):0-0. Doi:10.21608/Aimj.2020.27775. 119.