

Efek Protektif *Thymoquinone* Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley* yang Diinduksi Rifampisin

Rika Oktaria¹, Susianti², Ratna Dewi Puspita Sari³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Bagian Anatomi, Patologi Anatomi dan Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

³Bagian Obstetri dan Ginekologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Rifampisin merupakan salah satu terapi lini pertama dari tuberkulosis. Peningkatan kasus tuberkulosis setiap tahun menyebabkan penggunaan rifampisin juga sangat tinggi. Penggunaan rifampisin yang berlebihan menyebabkan efek samping berupa kerusakan ginjal. Kerusakan pada ginjal tersebut dapat diatasi dengan senyawa antioksidan. Salah satu antioksidan yang dapat digunakan adalah *thymoquinone*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah *thymoquinone* dapat memberikan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin. Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental menggunakan 25 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* yang dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu kontrol 1 (K1) tikus yang tidak diberikan perlakuan, kontrol 2 (K2) diberikan rifampisin dosis 100 mg/100gBB serta P1, P2 dan P3 diberikan rifampisin 100 mg/100gBB dan *thymoquinone* dengan dosis berbeda yaitu 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB dalam waktu 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata skor kerusakan ginjal pada K1: 1,28, K2: 3,16, P1: 2,08, P2: 2,12, P3: 2,88. Data yang diperoleh, diuji dengan uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan perbedaan bermakna $p=0,02$ ($p<0,05$). Terdapat efek protektif *thymoquinone* terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

Kata kunci: histopatologi ginjal, rifampisin, *thymoquinone*.

Thymoquinone Protective Effect on Kidney of *Sprague dawley* Strains White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced by Rifampicin

Abstract

Rifampicin is one of the first line therapy from tuberculosis. The increase of tuberculosis cases every year also cause the use of rifampicin highly increase. The excessive use of rifampicin can give side effects such as kidney damage. Damage to the kidney can be treated with antioxidant compounds. One of the compounds that can be used is *thymoquinone*. This study aims to find out whether *thymoquinone* can give protective effect on kidney histopathology appearance of *Sprague dawley* strain white rat (*Rattus norvegicus*) induced rifampicin. This study is an experimental study using 25 male white rats which was divided into 5 groups i.e K1 (rats with no treatments), K2 (rats given rifampicin 100 mg/100gBB), P1, P2 and P3 (given rifampicin 100 mg/100gBB and *thymoquinone* in different doses, i.e 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB and 20 mg/kgBB) for 14 days. The result of this study shows that the average score of kidney damage are K1: 1.28, K2: 3.16, P1: 2.08, P2: 2.12, P3: 2.88. The data obtained is examined by *Kruskal-Wallis* test which showed significant difference $p=0,02$ ($p<0,05$). There is *thymoquinone* protective effect on kidney histopathology appearance of *Sprague dawley* strain white rat (*Rattus norvegicus*) induced rifampicin.

Keywords: kidney histopathology, rifampicin, *thymoquinone*.

Korespondensi: Rika Oktaria, Jl. Pangeran Tirtayasa Gang Rajawali No. 17, Bandar Lampung, HP 082281913450, e-mail: rikaoktaria29@ymail.com.

Pendahuluan

Ginjal merupakan organ vital yang berperan penting dalam mempertahankan kestabilan lingkungan tubuh. Ginjal mengatur keseimbangan cairan tubuh, elektrolit, dan asam basa dengan cara filtrasi darah, reabsorpsi selektif air, elektrolit dan non elektrolit, serta mengekskresikan kelebihannya sebagai urin. Ginjal juga mengeluarkan produk sisa metabolisme (misal urea, kreatinin, dan asam urat) dan zat kimia asing.¹

Ginjal rentan terhadap efek toksik, baik dari obat-obatan maupun bahan-bahan kimia, karena ginjal menerima 25 persen dari curah jantung, sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah yang besar. Ginjal juga merupakan jalur ekskresi obligatorik untuk kebanyakan obat sehingga penggunaan obat yang tidak tepat dapat menyebabkan insufisiensi ginjal yang mengakibatkan penimbunan dan meningkatkan konsentrasi obat dalam cairan tubulus ginjal.¹

Salah satu obat yang menyebabkan gangguan ginjal adalah rifampisin. Toksisitas rifampisin terhadap ginjal telah dilaporkan secara sporadis dan histologi.² Efek samping rifampisin terhadap ginjal berupa reaksi inflamasi pada nefron ginjal (nefritis interstitial) yang dapat dikaitkan dengan *acute tubulointerstitial nephritis* (ATIN). Selain itu, efek toksik dari rifampisin dapat menyebabkan kematian sel-sel ginjal yang dikaitkan dengan tubular nekrosis, nekrosis papiler, dan nekrosis kortikal akut.³

Akhir-akhir ini, tren dalam menggunakan tanaman obat tradisional (herbal) sebagai pilihan pengobatan termasuk untuk pengobatan penyakit ginjal kembali mengemuka. Salah satu tanaman obat tradisional yang akhir-akhir ini mulai mendapatkan perhatian karena manfaatnya yang sangat banyak adalah jintan hitam (*Nigella sativa*) atau yang dikenal dengan nama *habbatussauda*. Bagian jintan hitam yang digunakan sebagai obat atau yang berkhasiat obat adalah pada bijinya.^{4,5}

Di dalam biji jintan hitam, *thymoquinone* diidentifikasi sebagai komponen utama (lebih dari 50%). *Thymoquinone* di Indonesia masih merupakan zat yang belum banyak diketahui orang. *Thymoquinone* merupakan suatu zat aktif yang memiliki fungsi proteksi melawan nefrotoksisitas dan hepatotoksisitas. Selain itu juga mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antimikroba dan antineoplastik.⁶

Thymoquinone yang memiliki fungsi proteksi melawan nefrotoksisitas, memiliki peran sebagai antiinflamasi, anti apoptosis dan antioksidan yang dapat menekan produksi radikal bebas, serta berperan dalam melindungi sel-sel tubuh dari stress oksidasi dan peroksidasi lipid yang berlebihan.^{7,8} Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti ingin membuktikan apakah *Thymoquinone* dapat mempengaruhi gambaran histopatologis ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diakibatkan oleh pemberian rifampisin.⁸

Metode

Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* berumur 10–16 minggu yang dipilih secara random sebagai subjek

penelitian. Tikus-tikus tersebut diinduksi dengan rifampisin agar mengalami kerusakan ginjal, setelah 2 jam pemberian rifampisin kemudian diberikan *thymoquinone* yang diharapkan akan memproteksi ginjal dari efek rifampisin.⁹⁻¹¹

Dosis rifampisin yang digunakan adalah 100 mg/100gBB atau 1 g/kgBB per oral. Berat tikus yang digunakan dalam penelitian adalah 200 g sampai 300 g, sehingga 100 mg/100gBB x 200 g = 200 mg. Dosis rifampisin yang dipilih adalah rifampisin tablet sediaan 600 mg. Rifampisin tablet digerus dan dilarutkan dalam 6 ml aquadest, dalam 1 ml larutan rifampisin terdapat 100 mg.^{12, 13}

Thymoquinone yang didapat dari SIGMA ALDRICH merupakan *thymoquinone* bentuk serbuk, sehingga harus dilarutkan dalam minyak zaitun terlebih dahulu.^{7,14} Dosis *thymoquinone* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 20 mg/kgBB, masing-masing dosis tersebut akan dilarutkan dalam 0,5 ml minyak zaitun.¹⁴

Sebanyak 25 ekor tikus, dikelompokkan dalam 5 kelompok. Kelompok K1 sebagai kontrol normal, hanya diberi akuades dan minyak zaitun. Kelompok K2 sebagai kontrol patologis, diberikan rifampisin dengan dosis 100 mg/100gBB. Kelompok P1, P2 dan P3 adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian rifampisin dosis 100 mg/100gBB, kemudian selang 2–4 jam dilakukan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB untuk kelompok P1, kelompok P2 dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 10 mg/kgBB dan kelompok P3 dengan dosis *thymoquinone* sebanyak 20 mg/kgBB. Pemberian rifampisin dan *thymoquinone* diberikan selama 14 hari.¹⁴

Setelah 14 hari, kemudian dilakukan laparatomi dan dibuat sediaan mikroskopis dengan metode paraffin dan pewarnaan *Hematoxilin & Eosin*.

Sampel ginjal difiksasi dengan formalin 10% dan dikirim ke Balai Veteriner Bandar Lampung untuk pembuatan sediaan mikroskopis jaringan ginjal. Slide diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Preparat histopatologi dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi

dan pembacaan dilakukan oleh ahli patologi anatomi.¹² Pembacaan preparat dilakukan dengan melihat kerusakan pada tubulus berupa adanya infiltrasi sel radang, pembengkakan sel epitel tubulus dan nekrosis. Kemudian juga dilihat kerusakan pada glomerulus berupa adanya infiltrasi sel radang, edema *spatium* bowman dan nekrosis. Setiap preparat diamati 5 lapang pandang yang dipilih secara acak.^{12, 14}

Hasil

Pada penelitian ini dilakukan analisis berupa rerata dari total kerusakan glomerulus dan tubulus ginjal dari gambaran histopatologi ginjal tikus yang diberikan rifampisin 100 mg/100gBB dan *thymoquinone* dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB dan 20 mg/kgBB. Selanjutnya dilakukan uji deskriptif pada masing-masing kelompok, sehingga didapat nilai rerata skor kerusakan ginjal kelompok K1 sebesar 1,28, pada kelompok K2 yang diberikan rifampisin 100 mg/100gBB yaitu sebesar 3,16, pada kelompok P1 yang diberikan rifampisin 100 mg/100gBB dan *thymoquinone* 5 mg/kgBB yaitu sebesar 2,08; pada kelompok P2 yang diberikan rifampisin 100 mg/100gBB dan *thymoquinone* 10 mg/kgBB yaitu sebesar 2,12 dan pada kelompok P3 yang diberikan rifampisin 100 mg/100gBB dan *thymoquinone* 20 mg/kgBB yaitu sebesar 2,88. Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p= 0,020$ ($p<0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rerata kerusakan ginjal yang bermakna pada dua kelompok atau lebih. Nilai tersebut menunjukkan bahwa *thymoquinone* memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

Pembahasan

Penelitian ini menunjukkan bahwa *thymoquinone* memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, bahwa pemberian *thymoquinone* 5 mg/kgBB dapat memberikan efek protektif terhadap kerusakan ginjal. Pada penelitian tersebut diketahui bahwa *thymoquinone* dapat menginduksi peningkatan kerja aktifitas enzim

antioksidan. Enzim-enzim antioksidan tersebut diantaranya adalah *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPX), *catalase* (CAT), *glutathione reductase* (GR), *glutathione s-transferase* (GST) dan *depletes reduced glutathione* (GSH).^{11,14}

Thymoquinone bekerja sebagai antioksidan dengan 2 mekanisme, yaitu melalui aktivitas OH *radical scavenging* yang efektif dalam menghambat peroksidasi lipid non enzimatis. Mekanisme ini dilakukan dengan cara mendonorkan radikal hidrogen kepada senyawa radikal bebas dan memperlambat laju autooksidasi.^{14,15} Antioksidan (AH) dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R* dan ROO*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Sementara itu, turunan radikal antioksidan (A*) yang terbentuk akibat reaksi tersebut, tetap memiliki keadaan yang lebih stabil dibanding radikal lipida, sehingga tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru.¹⁶

Hal ini juga sejalan dengan penelitian El-sheikh yang dilakukan pada kelompok tikus yang diberikan 10 mg/kg *thymoquinone* dan diinduksi 20 mg/kg metrotreksat dosis tunggal. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pada akhir hari ke-3 percobaan, terjadi peningkatan fungsi ginjal dan perbaikan gambaran histologi ginjal dibandingkan dengan yang diberikan metrotreksat saja.¹¹ Mekanisme terjadinya perbaikan tersebut, diketahui melibatkan penurunan tanda-tanda inflamasi dengan menurunkan level *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α), *nuclear factor kappa B* (NF-kB) dan *cyclooxygenase 2* (COX-2). Selain itu, *thymoquinone* juga menurunkan tingkat *nitrosative stress* di kedua ginjal yang ditunjukkan oleh penurunan *nitric oxide* di tingkat jaringan, dibandingkan dengan yang diberikan metrotreksat saja. Di sini, menunjukkan bahwa *thymoquinone* menginduksi penurunan tingkat *nitric oxid* karena ekspresi *downregulation nitrosative stress* di ginjal.^{11,14} Berdasarkan penelitian yang dilakukan Mahmoud pada tahun 2014 bahwa *thymoquinone* juga memiliki efek anti apoptosis yang dilihat dari penurunan ekspresi penanda apoptosis, yaitu caspase 3 pada tikus yang diberikan *thymoquinone* 20 mg/kg dibandingkan dengan tikus yang diinduksi dengan gentamisin saja.^{10,14}

Efek protektif *thymoquinone* yang telah dijelaskan diatas, dapat mencegah kerusakan ginjal yang diinduksi rifampisin. Kerusakan ginjal akibat rifampisin ini, sesuai dengan penelitian yang dilakukan Amalina pada tahun 2014, yang menunjukkan bahwa pemberian rifampisin secara oral pada tikus, mengakibatkan timbulnya perubahan struktur histopatologi ginjal.¹²

Rifampisin menyebabkan kerusakan ginjal melalui beberapa cara, yaitu menginduksi radikal bebas dan *Reactive Oxgen Species* (ROS) yang menyebabkan peningkatan stress oksidatif, mengikat komponen normal membran basal tubulus (TBM) dan bertindak sebagai hapten. Rifampisin juga dapat meniru antigen yang biasanya hadir dalam TBM atau interstitium. Rifampisin yang meniru antigen, menginduksi antibodi sehingga terbentuk kompleks imun (kompleks-toksik) yang memicu kerusakan ginjal.^{10,14,15}

Selain itu, pemberian rifampisin juga dapat mengakibatkan menurunnya antioksidan alami di dalam tubuh, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan dan oksidan di dalam tubuh, yang akhirnya berperan sebagai patogenesis kerusakan ginjal. Hal ini dibuktikan pada penelitian Mahmoud (2015), yang menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara tikus yang diinduksi rifampisin terhadap rendahnya kadar *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GPX) dan *depletes reduced glutathione* (GSH) yang merupakan antioksidan alami didalam tubuh.¹⁰

Setelah dilakukan uji *Kruskal-Wallis*, kemudian dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dan didapatkan hasil kelompok P1 dan P2 tidak bermakna dengan $p= 0,915$. Hal ini berarti kelompok yang diberi *thymoquinone* dengan dosis 10 mg/kgBB dan dosis 5 mg/kgBB mengalami perbaikan histopatologi ginjal yang hampir sama. Sedangkan efek protektif *thymoquinone* antara kelompok P2 dan P3, juga didapatkan tidak bermakna dengan $p= 0,201$. Hal ini memperlihatkan pemberian *thymoquinone* dosis 5 mg/kgBB dan dosis 10 mg/kgBB dan dosis 20 mg/kgBB mengalami perbaikan histopatologi ginjal yang hampir sama.

Selain itu, dilihat dari rerata kerusakan ginjal pada P1, P2, dan P3 kerusakan ginjal semakin meningkat ketika diberikan dosis *thymoquinone* yang semakin tinggi. Hal ini tentunya menolak hipotesis bahwa peningkatan dosis *thymoquinone* dapat meningkatkan efek protektif terhadap kerusakan ginjal tikus. Peningkatan dosis *thymoquinone* tidak meningkatkan efek protektif, dapat terjadi karena efek antioksidan yang berlebihan dari *thymoquinone*. Penggunaan antioksidan dengan konsentrasi yang tinggi, menyebabkan antioksidan tersebut lenyap bahkan dapat menjadi prooksidan.¹⁶

Dilihat dari rerata kerusakan ginjal pada K1 yaitu tikus yang hanya diberi makan mengalami kerusakan dengan rerata kerusakan 1,28. Kerusakan pada kelompok ini bisa disebabkan oleh variabel luar yang tidak dapat dikendalikan, seperti kondisi psikologis tikus yang dapat mengalami stres akibat pemberian perlakuan, kurangnya higienis pada kandang yang dapat menyebabkan kerentanan terhadap infeksi, serta kondisi awal ginjal tikus sebelum diberi perlakuan. Menurut Sanchez, aktivitas enzim sitosol dapat meningkat ketika mengalami stres, sehingga dapat menimbulkan jejas pada sel, misalnya pada jantung dan ginjal. Kerusakan tersebut juga dapat terjadi karena adanya proses apoptosis yang secara fisiologis dialami oleh semua sel.¹⁷

Simpulan

Thymoquinone dengan dosis 5 mg/kgBB dan 10 mg/kgBB memiliki efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

Pada penelitian ini, peningkatan dosis *thymoquinone* tidak dapat meningkatkan efek protektif terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin.

Daftar Pustaka

1. Price SA, Wilson LM. Patofisiologi konsep klinis dan proses-proses penyakit. Edisi ke-6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2006.
2. Chasani S. Penurunan fungsi ginjal, dalam naskah lengkap diabetes melitus ditinjau dari aspek penyakit dalam. Semarang:

- Universitas Diponegoro; 2007. hlm. 181—8.
3. Min HK, Kim EO, Lee SJ, Chang YK, Suh KS, Yang CW, et al. Rifampin- associated tubulointerstitial nephritis and Fanconi syndrome presenting as hypokalemic paralysis. *BMC Nephrol* [internet]. 2013 [disitasi tanggal 15 September 2018]; 14(1):13. Tersedia dari <http://www.biomedcentral.com/14712369/14/13>
 4. Dewoto HR. Pengembangan obat tradisional menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*. 2007; 57(7):205—11.
 5. Vahdati MN, Rakhshandeh H, Omidi A. An investigation on LDSO and subacute hepatotoxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice. *Pharmazie*. 2005; 60(7):544—7.
 6. Ali SA, Asghar F, Nafees M, Tayyab M. Effect of *Nigella sativa* (kalonji) on serum lipid profile. *J ANNALS*. 2012; 18(5):224—8.
 7. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol induced gastric mucosal injury in rats. *J Gastroenterology*. 2005; 11(42):6662—6.
 8. Zaher KS, Ahmed WM, Zerizer SN. Observations on the biological effects of black cumin seed (*Nigella sativa*) and green tea (*Camellia sinensis*). *J Glob Vet*. 2008; 2(4):198—204.
 9. Adiyati PN. Ragam jenis ektoparasit pada hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor; 2011.
 10. Mahmoud A. *Prunus armeniaca* leave extract protects against isoniazid and rifampicin induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress and inflammation. *J Food and Nutrition Science*. 2015; 2(4):1-6.
 11. El-sheikh AAK, Morsy MA, Abdalla AM, Hamouda AH, Alhaider IA. Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate- induced toxicity in rats. *J Hindawi Publishing Corporation*. 2015; 15(1):859—83.
 12. Amalina HA. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 40% kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih jantan yang diinduksi rifampisin [Skripsi]. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung; 2014.
 13. Astuti W. Efek proteksi pemberian ekstrak buah mahkota dewa terhadap gambaran mikroskopis ginjal tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang diinduksi rifampisin [Skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung; 2012.
 14. Mahmoud AM, Ahmed OM, Galaly SR. Thymoquinone and curcumin attenuate gentamicin induced renal oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *J EXCLI*. 2014; 13(14):98—110.
 15. Lerma EV, Berns J, Nissenon A. Current diagnosis & treatment nephrology & hypertension. USA: Lange; 2008.
 16. Masuda T, Yukiko T, Hiromi B, Tomomi M, Yoshio T, Hichemasa Y. Structural identification of new curcumin dimers and their contribution to the antioxidant of curcumin. *J Agric Food Clem*. 2002; 50(1):2524—30.
 17. Robbins SL, Kumar V, Cotran RS. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta: EGC. 2007; hlm. 571-3.