

**PERBANDINGAN EFEK PEMBERIAN MADU DAN *N-ACETYLCYSTEINE*
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS GINJAL MENCIT (*Mus musculus*)
YANG DIBERIKAN PAPARAN ASAP ROKOK**

Debby Sanders¹, Maria Nindatus², Marissa Matinahoru³

Debby Sanders¹. Mahasiswa Fakultas Kedokteran, Universitas Pattimura, Kampus FK Unpatti, Jl.

Ir.Putuhena, Ambon, Maluku.

Email : debbsanders5@gmail.com

dr. Maria Nindatu². dr. Marissa Matinahoru³. Dosen Fakultas Kedokteran, Universitas Pattimura,
Kampus FK Unpatti, Jl. Ir.Putuhena, Ambon, Maluku.

Abstrak

Madu merupakan bahan alam yang mengandung antioksidan. Selain itu adapula antioksidan sintetik misalnya *N-Acetylcysteine* yang dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efek pemberian madu dan *N-Acetylcysteine* terhadap gambaran histopatologis ginjal mencit yang diberikan paparan asap rokok. Penelitian ini menggunakan *true experimental* dengan pendekatan *post test only control group design*. Sampel dikelompokkan secara acak menjadi kelompok kontrol dan kelompok intervensi. Kelompok intervensi diberikan madu dan *N-Acetylcysteine* kemudian diberikan paparan asap rokok, selanjutnya di amati perbedaannya dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Sampel penelitian ini menggunakan mencit (*Mus musculus*) jantan dengan berat badan $\pm 20 - 30$ gr. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan, dengan nilai $p > 0,05$ ($P=0,749$) antara Madu dan *N-Acetylcysteine* terhadap atrofi glomerulus ginjal mencit yang diberikan paparan asap rokok. Selanjutnya terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ ($P=0,029$) antara madu dan *N-Acetylcysteine* terhadap nekrosis tubulus ginjal mencit yang diberikan paparan asap rokok.

Kata Kunci: Madu, *N-Acetylcysteine*, Ginjal, Mencit (*Mus musculus*), Asap Rokok

Abstract

Honey is a natural ingredient that contains antioxidants. In addition there are also synthetic antioxidants such as *N-Acetylcysteine* which can neutralize free radicals and prevent kidney damage. This study aims to compare the effects of honey and *N-Acetylcysteine* on histopathological features of kidney mice given exposure to cigarette smoke. This study uses true experimental with post test only control group design approach. Samples were grouped randomly into control groups and intervention groups. The intervention group was given honey and *N-Acetylcysteine* then given exposure to cigarette smoke, then observed the difference using the *Kruskal-Wallis* test and continued with the *Mann-Whitney* test. The sample of this study uses mice (*Mus musculus*) male with a body weight of $\pm 20-30$ gr. The results showed no significant difference, with $p > 0.05$ ($P = 0.749$) between Honey and *N-Acetylcysteine*

against renal glomerular atrophy of mice given exposure to cigarette smoke. Furthermore, there was a significant difference with $p < 0.05$ ($P = 0.029$) between honey and *N-Acetylsysteine* against renal tubular necrosis of mice given exposure to cigarette smoke.

Keywords: Honey, *N-Acetylsysteine*, Kidney, Mice (*Musc musculus*), Cigarette Smoke

Pendahuluan

Merokok merupakan kebiasaan buruk yang masih banyak ditemukan di masyarakat. Merokok menjadi penyebab kematian utama terbesar didunia karena dapat membunuh hingga setengah dari penggunaanya dan menyebabkan lebih dari 7 juta orang meninggal setiap tahunnya.¹ *World Health Organization* (WHO) memprediksi pada tahun 2030 kematian di seluruh dunia karena produk tembakau akan melebihi delapan juta per tahun, dan 70% korban berasal dari negara berkembang.¹

Indonesia adalah negara dengan konsumsi rokok terbesar ketiga dari sepuluh negara setelah Cina dan India. Menurut *Global Burden of Disease* (GBD) pada negara Indonesia, merokok merenggut nyawa setidaknya 244.000 orang setiap tahunnya dan menyebabkan sekitar 21% kematian laki-laki dewasa dan 8% kematian perempuan dewasa.²

Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun, 2013 rerata proporsi perokok yang berusia ≥ 10 tahun di Indonesia adalah 29,3%. Provinsi dengan proporsi perokok tertinggi di Indonesia yaitu provinsi Kepulauan Riau, dengan perokok setiap hari sebesar 27,2% dan

perokok kadang-kadang sebesar 3,5%. Data Riset Kesehatan, tahun 2013 menunjukkan

perilaku merokok masyarakat di Indonesia tidak banyak berubah dalam 5 tahun terakhir. Hal ini dapat terlihat jelas pada rata-rata jumlah batang rokok yang dihisap perhari pada tahun 2007 rata-rata 12 batang per hari menjadi 12,3 pada tahun 2013 dimana rerata batang rokok terbanyak yang dihisap ditemukan di Bangka Belitung (18 batang) dan di Riau (16-17 batang).^{3,4}

Data provinsi Maluku, proporsi perokok setiap hari yang berusia ≥ 10 tahun sebesar 22,1% sedangkan perokok kadang-kadang sebesar 6,5%. Proporsi penduduk berumur ≥ 10 tahun yang merokok setiap hari terbanyak berada di Kabupaten Kepulauan Aru dan Buru Selatan masing-masing 27,5% dan terendah di Kabupaten Seram Bagian Barat sebesar 18,7%.⁴

Rokok merupakan salah satu sumber utama paparan toksin secara kimiawi yang dapat menimbulkan berbagai penyakit salah satunya gangguan ginjal. Hal tersebut dapat terjadi akibat berbagai macam senyawa kimiawai yang bersifat toksik dalam rokok. Satu batang rokok yang dibakar mengeluarkan lebih kurang 4.000 bahan kimia seperti nikotin,

karbon monoksida, nitrogen oksida, amonia, nitrosamin. Senyawa kimia lain yang terkandung dalam rokok adalah *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas yang berperan penting dalam patofisiologi beberapa gangguan ginjal. ROS pada asap rokok akan mengurangi suplai oksigen ke paru-paru karena yang diangkut adalah Karbon Monoksida (CO) sehingga terjadi hipoksia. Sel tubuh yang menderita kekurangan oksigen akan berusaha meningkatkan asupan oksigen melalui kompensasi pembuluh darah. Apabila proses kompensasi itu berlangsung lama dan terus menerus maka pembuluh darah akan mudah rusak.⁵

Menurut Culhaci yang dikutip dari Kurniati⁶, aktifitas merokok dapat meningkatkan resiko gangguan ginjal serta terjadi perubahan struktur yang terjadi akibat kerusakan tersebut dapat diamati dari gambaran mikroskopis cedera sel yang dapat meliputi reaksi degenerasi dan nekrosis.⁶ Hal ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti⁷ tahun 2016, menemukan bahwa dengan pemberian asap rokok terjadi nekrosis tubulus yang hebat yang ditandai dengan meningkatnya kerusakan inti yaitu piknosis, karioreksis, dan kariolisis.⁷

Menurut Kumar yang dikutip dari Intan⁸, Penyempitan pembuluh darah akan terjadi di beberapa organ salah satunya ginjal sehingga

mengakibatkan peredaran darah ke ginjal terhambat. Hal tersebut membuat glomerulus tidak dapat menyaring bahan-bahan toksik yang terkandung di dalam asap rokok, sehingga dapat merusak sel endotel glomerulus. Apabila proses filtrasi terganggu maka sel darah dan protein akan tertimbun pada tubulus sehingga proses reabsorpsi dan sekresi terganggu. Hal ini menyebabkan sel epitel tubulus terjadi kontak langsung dengan bahan yang direabsorpsi sehingga sel epitel tubulus ginjal mengalami kerusakan atau nekrosis.⁸

Upaya pencegahan kerusakan jaringan ginjal akibat senyawa ROS dapat dilakukan dengan mengkonsumsi makanan kaya antioksidan dari luar tubuh sebagai upaya untuk mencegah, memperlambat serta memperbaiki dampak negatif akibat radikal bebas (*electron acceptor*) tersebut, dibutuhkan adanya suatu antioksidan (*electron donor*). Apabila jumlah radikal bebas dan spesies reaktif dalam tubuh melebihi kemampuan antioksidan endogen, maka tubuh memerlukan asupan antioksidan yang didapat dari makanan atau antioksidan sintetik yaitu obat-obatan yang mengandung antioksidan.⁹

Salah satu bahan alam yang kaya akan antioksidan adalah madu. Madu adalah cairan manis alami yang berasal dari nektar tumbuhan yang diproduksi oleh lebah madu. Bentuk

madu berupa cairan kental, berwarna bening atau kuning pucat sampai kecoklatan, rasanya manis dengan aroma enak dan segar.¹⁰ Madu memiliki kandungan yaitu, fruktosa, glukosa, maltosa, sukrosa, mineral, asam bebas (asam glukonat), nitrogen, air dan protein. Madu mengandung vitamin berupa vitamin A, thiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), niasin, piridoksin, asam pantotenat, asam folat, betakaroten, sianokobalamin (vitamin B12), vitamin C, vitamin D, vitamin E, biotin, flavonoid dan fenolat. Madu juga memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antiinflamasi, stimulasi imun, anti ulserasi.¹⁰ Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Muhartono et al¹¹, menunjukkan bahwa hasil total senyawa fenolat yang tinggi pada madu memiliki nilai aktivitas antiradikal bebas yang tinggi pula.¹¹ Salah satu antioksidan sintetik yang biasa digunakan yaitu *N-Asetylcysteine*.

Dalam praktek klinis *N-Asetylcysteine* direkomendasikan untuk mencegah kerusakan ginjal akibat kontras pada pasien gangguan ginjal. Dalam penelitian Meta-Analisis yang dilakukan oleh Alonso et al¹², yaitu tentang efek pencegahan Nefropati akibat radiokontras menggunakan *N-Asetylcysteine* pada pasien ginjal kronik, didapatkan hasil bahwa *N-Asetylcysteine* menurunkan resiko terjadinya nefropati akibat radiokontras. Hal ini didukung oleh penelitian yang juga dilakukan oleh Izadia et al¹³, yaitu *N-Asetylcysteine* bertindak

dengan menaikkan konsentrasi intra-seluler glutation dan efek farmakologis meliputi peningkatan potensi antioksidan seluler dengan mengisi glutation yang habis oleh radikal bebas dan mengikat ROS serta penghambatan aktivitas neutrofil dan produksi *Tumor Necrosis Factor* (TNF).^{13,14}

Hal yang sama juga dikemukakan pada penelitian yang dilakukan oleh Kelly¹⁵, yaitu *N-Asetylcysteine* mampu merangsang sintesis glutation dan mengikat radikal bebas, serta memiliki kegunaan klinis sebagai agen pelindung organ ginjal dari kerusakan.^{15,16}

Berdasarkan uraian di atas, maka potensi antioksidan dari madu dan *N-Asetylcysteine* dalam mencegah kerusakan ginjal akibat paparan asap rokok belum banyak diteliti sehingga sangat diperlukan kajian lebih lanjut dalam mengetahui perbandingan efek antara pemberian madu dan *N-Asetylcysteine* terhadap gambaran histopatologi ginjal yang diberikan paparan asap rokok dengan rumusan masalah yang di ambil yaitu bagaimana perbandingan efek antara pemberian madu dan *N-Asetylcysteine* terhadap gambaran histopatologis ginjal mencit yaitu rata-rata jumlah atrofi glomerulus dan kerusakan sel tubulus ginjal yang diberikan paparan asap rokok.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan pendekatan *post test only control group design*. Desain *post test only control group* merupakan desain dimana sampel dikelompokkan secara acak menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Intervensi dilakukan terhadap kelompok perlakuan serta dilanjutkan dengan penilaian pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol sebagai pembandingnya.¹⁷

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling*, dimana sampel diambil secara acak kemudian dikelompokkan menjadi empat kelompok percobaan sebagai berikut:

1. Kelompok I (kontrol negatif) : tidak diberikan paparan asap rokok, larutan madu dan *N-Acetylcysteine*.
2. Kelompok II (kontrol positif) : diberikan paparan asap rokok tetapi tidak diberikan larutan madu dan *N-Acetylcysteine* tetapi diberikan aquades.
3. Kelompok III (perlakuan 1) : diberikan larutan madu kemudian diberikan paparan asap rokok.
4. Kelompok IV (perlakuan 2) : diberikan *N-Acetylcysteine* kemudian diberikan paparan asap rokok.

Menentukan besar sampel pada penelitian eksperimen menggunakan rumus Federer.¹⁸

Jadi jumlah sampel minimal yang digunakan pada masing-masing kelompok percobaan sebanyak enam ekor mencit, sehingga total jumlah keseluruhan sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor mencit.

Dosis yang diberikan ditentukan berdasarkan faktor konversi berat badan dari manusia ke mencit. Berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis oleh Laurence & Bacharach (1964)¹⁹. Jadi dosis madu dan *N-Acetylcysteine* yang diberikan pada kelompok perlakuan setiap mencit adalah 0,2mL larutan yang diberikan selama 21 hari. Pemaparan asap rokok dilakukan di Laboratorium Histologi FK-UNPATI. Pemaparan asap rokok dilakukan dengan dosis satu batang/hari dan diberikan setiap pagi setelah \pm 30 menit pemberian madu dan *N-Acetylcysteine*. Pada hari ke 22 mencit di bedah dengan insisi Y yang dilakukan pada daerah abdomen. Setelah itu difiksasi menggunakan formalin 10 % dan selanjutnya dibuat preparat histologis dan diamati.

Hasil yang telah diperoleh akan dianalisa menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk menguji normalitas data., Karena sebaran data tidak normal, maka digunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% dengan $\alpha=0,05$. Hasil uji dinyatakan bermakna apabila $p<0,05$.

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan oleh komisi etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura.

Hasil

Pengamatan atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus ginjal mencit jantan secara mikroskopis menggunakan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE. Pengamatan menggunakan mikroskop pembesaran 200 kali dan 1000 kali, kemudian hasilnya dijumlahkan. Gambaran mikroskopis atrofi glomerulus pada sediaan preparat ditandai dengan mengecilnya glomerulus di dalam kapsula bowmen, sedangkan nekrosis tubulus ginjal ditandai dengan inti sel piknotis, karioreksis, dan kariolesis.

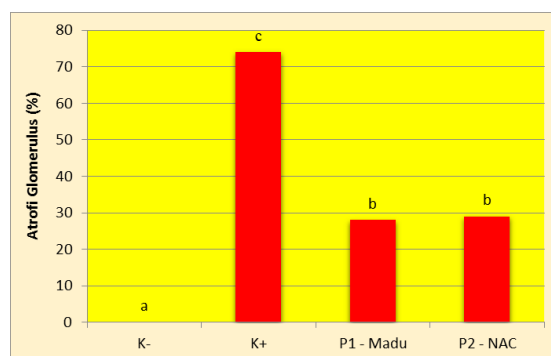
Presentase jumlah atrofi glomerulus ginjal mencit jantan yang di papar asap rokok, disajikan pada tabel 1 dan gambar 1 sebagai berikut :

Kelompok (%)	Ulangan						Rata-rata (X±SD)
	I	II	III	IV	V	VI	
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	0±0 ^a
Kontrol (+)	80,7	78,2	71,4	66,7	76,4	73,6	74,5±5,0 ^c
Perlakuan (Madu)	21,6	27,2	18,5	30,4	35	37,5	28,3±7,4 ^b
Perlakuan (NAC)	24,1	24	36	24,3	34,6	35,7	29,7±6,2 ^b

Tabel 1. Rata-Rata Presentase jumlah Atrofi Glomerulus ginjal mencit

Ket. Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata, sedangkan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata.

Histogram rata-rata presentase atrofi glomerulus ginjal mencit dapat dilihat pada gambar 1 sebagai berikut :



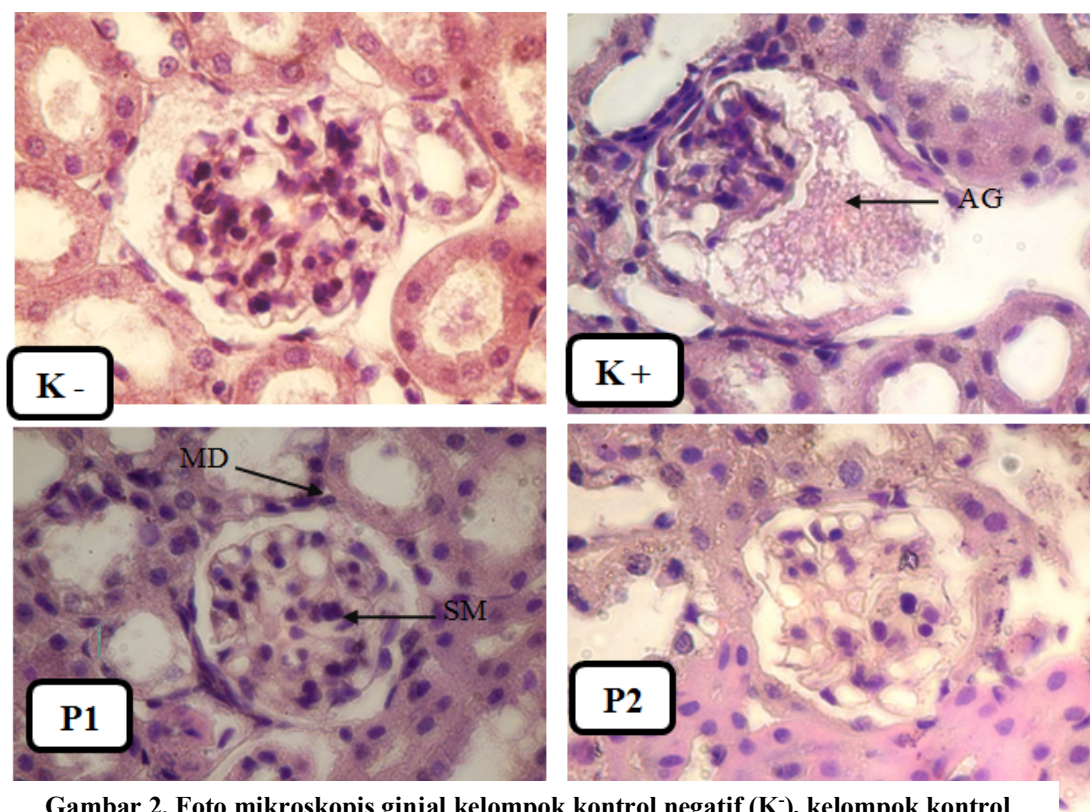
Gambar 1. Rata-rata presentase jumlah atrofi glomerulus ginjal mencit

Gambar 1 menunjukkan bahwa atrofi glomerulus ginjal mencit pada kelompok kontrol positif (+) mencapai 74,5%, dan pada kelompok perlakuan madu (P₁) yaitu 28,3% sedangkan pada kelompok perlakuan *N-Acetylsysteine* (P₂) yaitu 29,7%. Untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok menggunakan uji statistik ANOVA, maka sebelumnya harus dilakukan uji homogenitas dan normalitas pada data sebagai syarat. Hasil uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's* dilihat pada tabel Homogeneity of Variances Test (Lampiran-4). Pada tabel diperoleh nilai $F=0,00$ yang menunjukkan bahwa data tidak homogen. Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* diperoleh hasil data *N-Acetylsysteine* menunjukkan data yang tidak berdistribusi normal yaitu $F=0,01$. Berdasarkan hasil uji tersebut maka syarat uji ANOVA tidak terpenuhi, sehingga uji yang dapat digunakan

yaitu uji statistik non parametrik yaitu Kruskal-Wallis.

Hasil analisa menggunakan uji stastistik Kruskal-Wallis menunjukan nilai p lebih kecil dari 0,05 ($p = 0,000$), dengan taraf signifikansi 5%. Berdasarkan hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaaan yang signifikan antara perlakuan terhadap rata-rata

presentasi atrofi glomerulus. Berdasarkan hasil tersebut perlu dilakukan uji lanjut *Mann-Whitney* untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang berbeda dan mana yang tidak berbeda.



Gambar 2. Foto mikroskopis ginjal kelompok kontrol negatif (K^-), kelompok kontrol positif (K^+), kelompok madu (P_1) dan kelompok *N-Acetylsysteine* (P_2)
Keterangan : Atrofi Glomerulus (AG), Makula Densa (MD), Sel Mesangial (SM)

Hasil analisa uji Mann-Whitney menunjukan bahwa antara kontrol negatif (K^-) dan kontrol positif (K^+) berbeda nyata, antara kelompok kontrol positif (K^+) dan kelompok madu (P_1) berbeda nyata, antara kelompok kontrol positif (K^+) dan kelompok *N-Acetylsysteine* (P_2) berbeda nyata, antara kelompok madu (P_1) dan kelompok *N-*
<https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/index>

Acetylsysteine (P_2) tidak berbeda nyata dengan hasil nilai p lebih besar dari 0,05 ($P=0,749$). Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima dan H_1 di tolak, dimana tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap atrofi glomerulus ginjal mencit. Hasil pengamatan histopatologi menggunakan

pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE), ginjal mencit kelompok kontrol negatif yang hanya diberi aquades tidak menunjukkan kerusakan. Pada kelompok mencit yang diberi paparan asap rokok kretek terlihat bahwa adanya atrofi glomerulus. Pada kelompok mencit yang diberikan madu dan *N-Acetylsysteine* 0,2 ml terlihat bahwa masih terjadi atrofi glomerulus namun juga terjadi perbaikan sel.

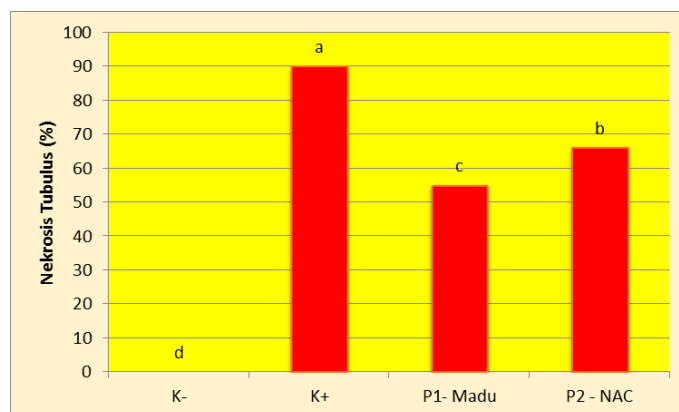
Presentase nekrosis tubulus ginjal mencit jantan yang di papar asap rokok, disajikan pada tabel 2 dan gambar 3 sebagai berikut :

Kelompok (%)	Ulangan						Rata-rata (X±SD)
	I	II	III	IV	V	VI	
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	0±0 ^d
Kontrol (+)	88	92	96	88	92	84	90±5,4,1 ^a
Perlakuan (Madu)	48	56	52	64	52	60	55±5,8 ^c
Perlakuan (NAC)	56	76	72	60	68	64	66±7,4 ^b

Tabel 2. Rata-Rata Presentase nekrosis tubulus ginjal mencit

Ket. Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata, sedangkan huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata.

Histogram rata-rata presentase nekrosis tubulus ginjal mencit dapat dilihat pada gambar 3 sebagai berikut :



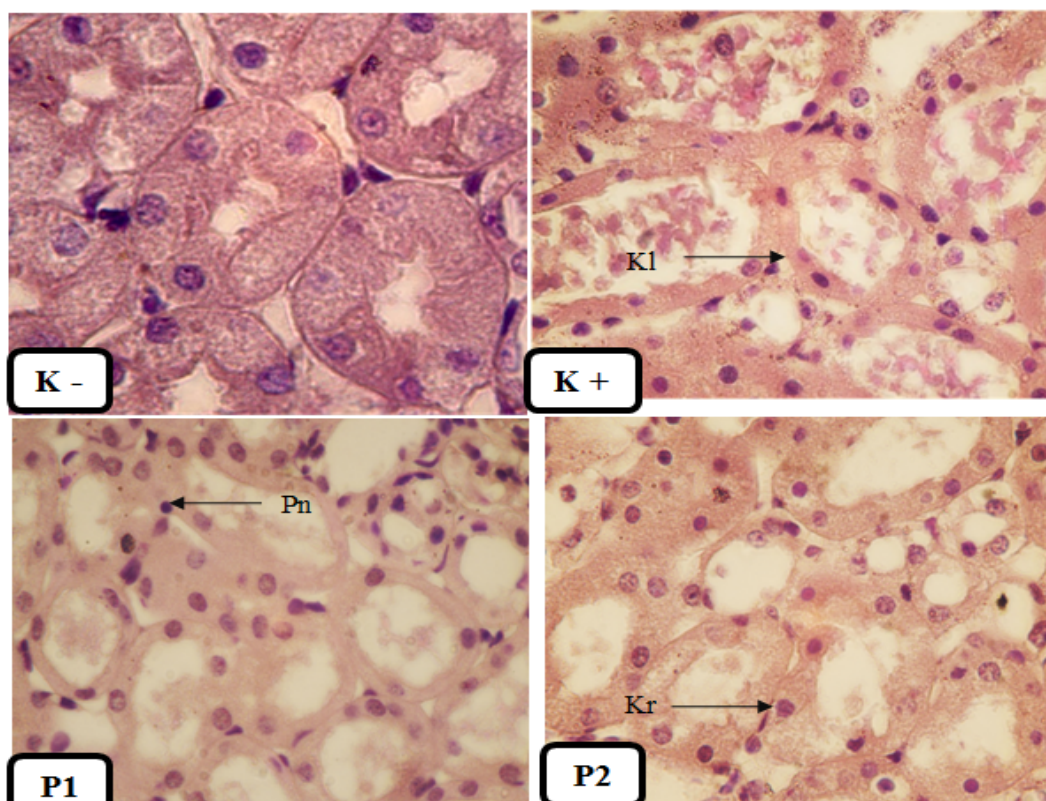
Gambar 3. Rata-rata presentase jumlah tubulus ginjal mencit yang nekrosis

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa jumlah nekrosis tubulus pada kelompok kontrol positif (K^+) mencapai 90%, dan pada kelompok perlakuan madu (P_1) yaitu 55% sedangkan pada kelompok perlakuan *N-Acetylsysteine* (P_2) yaitu 66%. Berdasarkan hasil normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* diperoleh hasil yaitu data *N-Acetylsysteine* menunjukkan data berdistribusi normal namun untuk uji homogenitas dengan menggunakan *Levene's* diperoleh nilai $F=0,00$, yang artinya data tersebut tidak homogen, sehingga uji yang dapat digunakan yaitu *Kruskal-Wallis*. Hasil analisa menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai p lebih kecil dari 0,05 ($p=0,000$), dengan taraf signifikansi 5%. Berdasarkan hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil tersebut perlu dilakukan uji lanjut *Mann-Whitney* untuk mengetahui pasangan perlakuan mana yang

berbeda dan mana yang tidak berbeda. Hasil analisa uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa antara kontrol negatif (K^-) dan kontrol positif (K^+) berbeda nyata, antara kelompok kontrol positif (K^+) dan kelompok madu (P_1) berbeda nyata, antara kelompok kontrol positif (K^+) dan kelompok *N-Acetylsysteine* (P_2) berbeda nyata, antara kelompok madu (P_1) dan

kelompok *N-Acetylsysteine* (P_2) berbeda nyata dengan hasil nilai p lebih kecil dari 0,05 ($P = 0,029$). Berdasarkan hasil tersebut maka dapat ditarik kesimpulan H_0 ditolak dan H_1 di terima, dimana terdapat perbedaan yang signifikan antara madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap nekrosis tubulus ginjal mencit.



Gambar 2. Foto mikroskopis ginjal kelompok kontrol negatif (K^-), kelompok kontrol positif (K^+), kelompok madu (P_1) dan kelompok *N-Acetylsysteine* (P_2)
Keterangan : Piknosis (Pn), Karioreksis (Kr), Kariolisis (Kl)

Pembahasan

Data yang didapatkan dari perhitungan jumlah atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus ginjal mencit yang diberikan paparan asap rokok, madu dan *N-Acetylsysteine* terdapat perbedaan tiap kelompok perlakuan.

Jumlah atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus pada kelompok normal dan yang diberikan paparan asap rokok.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (K^-) tidak menunjukkan adanya kerusakan. Pada kelompok kontrol positif (K^+) yang hanya di berikan dipaparan asap rokok mengalami atrofi

glomerulus dengan presentase yaitu 74,5% serta nekrosis tubulus dengan presentase tertinggi 90%. Hasil uji statistik juga menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif (K⁻) dan kontrol positif (K⁺). Hal ini menunjukkan bahwa asap rokok menyebabkan atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus secara signifikan. Namun bila tinjau dan dibandingkan dari rata-rata kerusakan atrofi dan tubulus, maka dapat dilihat bahwa presentase atrofi glomerulus jauh lebih rendah dibandingkan dengan nekrosis tubulus, hal ini dikarenakan glomerulus memiliki enzim *Superoxyde Dismutase* (SOD) yaitu antioksidan endogen yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan tubulus ginjal. Keadaan ini menyebabkan glomerulus menjadi lebih sedikit mengalami kerusakan dibandingkan tubulus.⁵³ Walaupun terdapat perbedaan namun kerusakan akibat asap rokok tersebut tetap terjadi karena antioksidan tidak cukup menetralkan radikal bebas dari asap rokok.

Asap rokok menyebabkan peningkatan radikal bebas yaitu *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Hal ini disebabkan karena asap rokok kretek mengandung banyak bahan kimia di antaranya karbonmonoksida (CO), tar dan nikotin serta senyawa radikal bebas lainnya. Komponen kimia toksik yang terkandung dalam asap rokok tersebut memicu meningkatnya radikal bebas. Radikal bebas dalam kadar yang tinggi akan menyebabkan

stress oksidatif, apabila keadaan ini berlangsung lama maka akan menyebabkan kerusakan pada sel.^{20,21}

Proses terjadinya atrofi pada glomerulus diakibatkan karena salah satu kandungan asap rokok yaitu nikotin berinteraksi dengan *Nicotinic Acetylcholine Reseptor* (nAChRS) $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$, $\beta 4$ dan $\beta 5$, yang terdapat pada sel mesangial dan sel-sel yang berada dalam pembuluh darah ginjal.²² Atrofi glomerulus menyebabkan terganggunya proses filtrasi. Jika kemampuan filtrasi berkurang, maka sel darah, protein, serta zat toksik lainnya dapat keluar bersama urin atau malah tertimbun pada tubulus karena dapat lolos pada proses filtrasi. Kerusakan yang parah pada tubulus akibat peningkatan tekanan intra glomerulus dapat menyebabkan terjadinya atrofi glomerulus. Sel tubulus yang berkontak langsung dengan zat toksik tersebut akan menyebabkan kerusakan atau nekrosis.^{20,23}

Kerusakan pada tubulus yang terjadi pada tahap pertama yaitu adanya peregangan dan hilangnya “brush border” tubulus proksimal disertai dengan penurunan polaritas sel. Selain itu terjadi sumbatan luminal dan respon inflamasi. Kehilangan sel-sel tubulus secara tidak merata tersebut disertai pegundulan dari membran basalis, dilatasi dari tubulus proksimal, dan diikuti oleh pembentukan “cast” dari serpihan sel-sel yang rusak.²³

Perubahan secara mikroskopik juga tampak pada perubahan intinya yang kehilangan gambaran kromatin, menjadi keriput, tidak vasikuler lagi, inti lebih padat, berwarna gelap (piknosis), inti terbagi atas fragmen-fragmen (karioreksis), (kariolisis). dan warna basofil dari kromatin memudar (kariolisis).^{20,24}

Jumlah atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus pada kelompok perlakuan madu

Berdasarkan hasil pengujian statistik kelompok kontrol positif (K^+) dan kelompok perlakuan madu (P_1) menunjukkan hasil statistik yang berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa madu menurunkan presentase atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa madu dapat memperbaiki kerusakan ginjal, karena senyawa-senyawa dalam madu yang berfungsi sebagai antioksidan dapat bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal bebas sehingga aktivitas senyawa radikal tersebut bisa dihambat.¹⁸ Hal ini juga ditunjukkan dalam penelitian yang dilakukan oleh Marantika, tahun 2015 dimana madu mengandung banyak mineral, zat flavonoid dan asam phenolik yang berfungsi sebagai agen antioksidan yang dapat mencegah kerusakan ginjal.¹⁰ Hal yang sama juga diteliti oleh Herdhimas, tahun 2013 dimana hasil penelitiannya menunjukkan bahwa pemberian

madu dapat menurunkan presentase kerusakan sel ginjal.²⁵

Jumlah atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus pada kelompok perlakuan *N-Acetylsysteine*

Hasil uji statistik antara kelompok positif (K^+) dan kelompok perlakuan *N-Acetylsysteine* (P_2) menunjukkan hasil statistik yang berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa *N-Acetylsysteine* menurunkan presentase atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus secara signifikan, dikarenakan *N-Acetylsysteine* merupakan prekursor GSH yaitu antioksidan yang kuat. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ebaed et al, tahun 2016 dengan hasil *N-Acetylsysteine* secara signifikan menurunkan stress oksidatif akibat induksi Acetaminophen.²⁴ Mekanisme kerja *N-Acetylsysteine* yaitu sebagai *direct antioxidant* karena mempunyai gugus thiol (SH) bebas yang dapat berinteraksi langsung dengan elektron dari ROS. Interaksi *N-Acetylsysteine* dengan ROS menyebabkan pembentukan radikal *N-Acetylsysteine thiol* dan *N-Acetylsysteine disulfid* sebagai produk akhir utama. Selain itu *N-Acetylsysteine* juga berperan sebagai antioksidan tidak langsung dimana *N-Acetylsysteine* akan dimetabolisme sebagai sistein yang merupakan prekursor glutation intrasel sehingga akan meningkatkan aktifitas enzim glutation S-transferase mensuplai glutation untuk glutation

peroksidase, yang berfungsi meningkatkan aktivitas antioksidan di dalam tubuh.²⁶

Perbandingan Jumlah atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus pada kelompok perlakuan madu dan *N-Acetylsysteine*

Hasil analisa rata-rata atrofi glomerulus antara kelompok perlakuan madu (P₁) yaitu 29,7% dan perlakuan *N-Acetylsysteine* (P₂) yaitu 28,5%. Hasil yang didapatkan tidak berbeda jauh. Setelah dilakukan uji statistik antara kedua kelompok tersebut, diperoleh hasil yaitu terdapat perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai p lebih besar dari 0,05 (P=0,749). Dengan demikian Ho diterima dan H1 di tolak, dimana tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap atrofi glomerulus. Hal ini dapat terjadi karena efek antioksidan yang dimiliki madu dan juga *N-Acetylsysteine* sama-sama dapat menurunkan atrofi glomerulus walaupun dengan mekanisme yang berbeda, namun sama-sama meningkatkan kadar antioksidan di dalam tubuh.

Perbedaan juga ditunjukkan pada penilaian nekrosis tubulus dimana hasil rata-rata tubulus yang mengalami nekrosis antara kelompok perlakuan madu (P₁) yaitu 55% dan perlakuan *N-Acetylsysteine* (P₂) yaitu 66%. Menurut hasil uji statistik antara kedua kelompok tersebut, diperoleh hasil yaitu terdapat perbedaan yang signifikan dengan nilai p lebih kecil dari 0,05 (P = 0,029).

Dengan demikian Ho ditolak dan H1 di terima, dimana terdapat perbedaan yang signifikan antara madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap nekrosis tubulus ginjal mencit.

Perbedaan yang signifikan ini menunjukkan bahwa madu memiliki efek yang lebih baik dibanding *N-Acetylsysteine* terkhusus dalam menurunkan kerusakan tubulus. Hal ini dapat terjadi akibat madu memiliki kandungan yang lebih lengkap seperti enzim salah satunya katalase yang dimana enzim ini mengkatalis hydrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan oksigen. Katalase berperan sebagai enzim peroksidasi khusus dalam reaksi dekomposisi hydrogen peroksida. Sel-sel yang mengandung katalase dalam jumlah sedikit sangat rentan terhadap serangan peroksidasi.²⁷ Begitu pula dengan vitamin C yang mampu mereduksi radikal superoksida, hidroksil, dan oksigen reaktif lainnya.²⁸ Madu juga memiliki vitamin E yang sangat aktif mencegah peroksidasi lipid dengan mentransfer atom hidrogen.²⁹ Selain dalam bentuk enzim dan vitamin, antioksidan dalam madu dapat berupa zat non gizi seperti betakaroten dan flavonoid yang turut berperan dalam meningkatkan antioksidan.³⁰ Penelitian yang dilakukan Widigdo, tahun 2014, betakaroten berpotensi menjaga integritas membran sel terhadap serangan radikal bebas.⁵⁷ Begitu pula flavonoid yang telah terbukti mempunyai efek biologis yang kuat. Sifat antioksidan flavonoid terutama berperan

terhadap radikal hidroksil, anion superoksida dan radikal peroksil.²⁵

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terbukti adanya proteksi madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap penurunan presentasi atrofi glomerulus dan nekrosis tubulus ginjal. Tetapi terdapat perbedaan yang tidak signifikan antara madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap penurunan atrofi glomerulus dan terdapat perbedaan yang signifikan antara madu dan *N-Acetylsysteine* terhadap penurunan nekrosis tubulus ginjal mencit yang diberikan paparan asap rokok kretek.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Asap rokok mengakibatkan terjadinya atrofi glomerulus sebesar (74,5%) dan nekrosis tubulus sebesar (90%).
2. Kelompok perlakuan madu yang mengalami atrofi glomerulus sebesar (28,3%) dan nekrosis tubulus sebesar (55%).
3. Kelompok perlakuan *N-Acetylsysteine* yang mengalami atrofi glomerulus sebesar (29,7%) dan nekrosis tubulus sebesar (66%).
4. Terdapat perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok madu dan

N-Acetylsysteine dalam menurunkan presentase atrofi glomerulus $p > 0,005$ ($P=0,749$).

5. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok madu dan *N-Acetylsysteine* dalam menurunkan presentase nekrosis tubulus $p < 0,005$ ($P=0,029$).

Referensi

1. World Health Organization. Global report: key fact tobacco. Geneva: WHO; 2017.
2. Global Burden of Disease. [cited 2018 Jan 23]. Available from: vizhub.healthdata.org/gbd-comapare/
3. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Perilaku merokok masyarakat Indonesia. Jakarta: Kemensos RI; 2015.
4. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). Jakarta: Kemenkes RI; 2013.
5. Simatupang DL, Susalit E, Wijaya I. Peran kombinasi hidrasi dan n-acetylcysteine terhadap nefropati akibat kontras 48 jam pasca *percutaneous coronary intervention* pada pasien penyakit ginjal kronik stadium 3. Jurnal Ilmu Penyakit Dalam Indonesia. 2016 Des; 3(3):125-130.

6. Kurniati S. Pengaruh pemberian ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma domestica* val.) terhadap gambaran histopatologis ginjal yang diinduksi asap rokok pada tikus putih wistar (skripsi). Kedokteran Hewan UGM; 2014. [cited 2018 Jan 3].
7. Wijayanti A. Pengaruh ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana*) terhadap gambaran histologik hati dan ginjal mencit (*Mus musculus*) yang terpapar asap rokok. *Jurnal Biologi*. 2016; 8(5): 10-18.
8. Hermawan IP. Skripsi. pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana linn*) terhadap nekrosis glomerulus dan tubulus ginjal mencit jantan (*mus musculus*) yang di paparkan asap rokok (skripsi). Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga; 2016. [cited 2018 Jan 3].
9. Meilina. Extra virgin olive oil menurunkan kadar MDA (Malondialdehyde) pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang dipaparkan asap rokok. *Intisari Sains Medis*. 2017;8(2):97-101. Available from: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/buletinve/article/view/28726>
10. Marantika A, Nisa K. Efek madu terhadap gambaran mikroskopik ginjal yang diinduksi boraks. *Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Majority*; 2015;8(4):37-40.
11. Muhartono, Hanriko R, Dwita H. Efek Protektif Madu Terhadap Ginjal Tikus Putih yang Diinduksi Etanol. *Jurnal Kedokteran Kesehatan Universitas Lampung*. 2012 [cited 2018 Jan 6]; 2(1):1-4.
12. Alonso A, Lau J, Jaber BL, Weintraub A, Sarnak MJ. Prevention of radiocontrast nephropathy with *N*-acetylcysteine in patients with chronic kidney disease: a meta-analysis of randomized, controlled trials. 2004. doi:<https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2003.09.009>
13. Izadia ED, Alya A, Manel J, Saloua E, Montasaar LM. A minireview on *N*-acetylcysteine: An old drug with new approaches. *Life Sciences*. 2016. doi: [10.1016/j.lfs.2016.03.003](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.03.003)
14. Rushworth GF, Megson IL. Existing and potential therapeutic uses for *N*-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits.
15. Kelly GS. Clinical application of *n*-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review*. 1998;3(2): 114-27
16. Beceren A, Sehirli AO, Omurtag GZ, Arbak S, Turan P. Protective effect of *N*-Acetyl-L-Cysteine (NAC) on endosulfan-induced liver and kidney toxicity in rats. [internet]. 2017 [cited 2018 Jan 4]; 10 (7); 10031-1003.

17. Setyanto AE. Memperkenalkan kembali metode eksperimen dalam kajian komunikasi. *Jurnal ilmu komunikasi*. 2015; 3 (1): 37-48.
18. Latumahina GJ, Kakisina P, Moniharapon M. Peran madu sebagai antioksidan dalam mencegah kerusakan pankreas mencit (*Mus musculus*) terpapar asap rokok kretek. *Molucca Medica*. 2011; 4 (1): 106-16.
19. Rahman N. Uji pengaruh bee pollen terhadap efek tonik madu dari spesies lebah (*Apis mellifera*) pada mencit putih jantan galur swiss webster (skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2012.
20. Kumar V, Abbas, Aster JC. Buku Ajar Patologi Robbins. Ed.9. Singapore: Elsevier; 2015.
21. Tawbariah L, Apriliana E, Wintoko R, Sukohar A. The corelation of consuming cigarette with blood pressure of the society in pasaran island kota karang village east teluk betung sub-district bandar lampung. Lampung. *Medical Journal Of Lampung University*. 2014.
22. Yayasan Ginjal Diatrans Indonesia. Rokok dan Penyakit Ginjal. *Buletin Dialife*. Jakarta;2012:6.
23. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Ed.6. Jilid II. Jakarta: Interna Publishing; 2014.
24. Ebaed SB, Sherif A, Shaloot, Boutros M, Ahmed S, et all. *Melatonin versus N-Acetylsystein in acetaminophen induced hepatotoxicity & efrotoxicity and metabolic syndrome* (experimental study). *Journal of American Science*. America; 2016;12(4): 88-103.
25. Herdimas Derry. Pengaruh protektif pemberian madu persone terhadap gambaran histopatologi ginjal pada tikus wistar jantan yang diinduksi metanol (disertasi). Universitas Jember; 2013 [cited 2018 Jan 8].
26. Pengaruh *N-acetylcysteine* terhadap kadar hs-CRP, albumin dan hemoglobin pada pasien penyakit ginjal kronik-hemodialisa-undernutrisi (thesis). Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2017. Rahman AF. Pengaruh paparan asap rokok dengan biofilter cengkeh dan daun kelor terhadap gambaran histologi organ paru, hati, dan viskositas darah mencit (*Mus musculus*) (skripsi). Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2016; [cited 2018 Jan 13].
27. Rahman AF. Pengaruh paparan asap rokok dengan biofilter cengkeh dan daun kelor terhadap gambaran histologi organ paru, hati, dan viskositas darah mencit (*Mus musculus*) (skripsi). Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2016

28. Zulaikhah ST. The role of antioxidant to prevent free radicals in the body. *Sanins Medika* [internet] 2017 [cited 2018 Feb 29]:8(1): 39-45.
29. Harahap E W, Sandora N, Winarto. Pengaruh pemberian antioksidan vitamin C dan E terhadap konsentrasi spermatozoa mencit (*Mus Musculus*) yang di papas asap rokok. *Jurnal Ilmu Kedokteran (JIK)*; 2017: 5(1);26-34.
30. Idris NA. Uji aktivitas antioksidan ekstrak sarang lebah dan madu hutan dari luwu utara dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) (skripsi). Makasar. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar; 2017
31. Eddy W. Pajanan Asap Rokok Kretek Pada Tikus Putih Sebagai Model Untuk Manusia : Perhatian Khusus Pada Perubahan Histopatologi dan Ultrastruktur Saluran Napas. Bogor;2006.