

EFEK MADU TRIGONA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ATORVASTATIN

*Effect of trigona honey supplementation on kidney histopathology in atorvastatin-induced rats (*Rattus norvegicus*)*

Mirawati Salampe^{1*}, Sukamto S Mamada², Rindayani¹, Suwahyuni Mus¹

¹ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

² Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

*Koresponden E-mail: mirnasalampe@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v16i2.1667>

ABSTRACT

*Trigona honey is produced by the Trigona sp. bee with a high phenolic content which have antioxidant activity. Furthermore the prolonged use and high doses of atorvastatin causes nephrotoxicity side effects. This research aims to determine the effect of trigone honey on the histopathological image of the kidneys of white rat (*Rattus norvegicus*) induced by atorvastatin at 20 mg/Kg BW for 3 weeks and 40 mg/Kg BW for 2 weeks. Twenty one rats were divided into 7 groups, and each group received different treatment for 5 weeks. The normal control received 0.5% NaCMC, the negative control received atorvastatin, the positive control received CoQ10 at 100 mg/kgBW orally for 2 hours before atorvastatin induction, the honey control received honey at 4.5 mL/kgBW, treatment 1 group was given honey at 1.5 mL/kgBW 2 hours before atorvastatin induction, treatment 2 group was given honey at 3 mL/kgBW 2 hours before atorvastatin induction, and treatment 3 group was given honey at 4.5 mL/kgBW 2 hours before atorvastatin induction. After 5 weeks, surgery was carried out and then observed the histopathological image of the rats' kidneys. The results, based on the evaluation of the tubular and glomerular cell score, showed that the administration of honey trigon at a dose of 4.5 ml/kg light weight protects against kidney damage by the induction of atorvastatin.*

Keywords : Statins, Histopathology, Kidney, Trigona Honey

ABSTRAK

Madu Trigona merupakan madu yang dihasilkan oleh lebah *Trigona* sp. yang dilaporkan memiliki kandungan fenolik tinggi sehingga memiliki aktivitas antioksidan. Penggunaan atorvastatin dalam jangka waktu yang lama dan dosis tinggi dapat menimbulkan efek samping nefrotoksisitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek madu trigona terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi atorvastatin 20 mg/Kg BB selama 3 minggu dan 40 mg/Kg BB selama 2 minggu. Dua puluh satu ekor tikus dibagi menjadi 7 kelompok. Masing-masing kelompok mendapatkan perlakuan berbeda selama 5 minggu. Kontrol normal diberikan NaCMC 0,5%, kontrol negatif diberikan atorvastatin, kontrol positif diberikan CoQ10 100 mg/kgBB secara oral 2 jam sebelum induksi atorvastatin, kontrol madu diberikan madu 4,5 mL/kgBB, kelompok perlakuan 1 diberikan madu 1,5 mL/kgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin, kelompok perlakuan 2 diberikan madu 3 mL/kgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin, dan kelompok perlakuan 3 diberikan madu 4,5 mL/kgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin. Setelah pemberian selama 5 minggu, dilakukan pembedahan kemudian dilakukan pengamatan gambaran histopatologi ginjal tikus. Hasil penelitian berdasarkan penilaian skor sel tubulus dan sel glomerulus menunjukkan bahwa pemberian madu trigona pada dosis 4,5 mL/kgBB memberikan perlindungan terhadap kerusakan ginjal yang disebabkan oleh induksi atorvastatin.

Kata Kunci : Statin, Histopatologi, Ginjal, Madu Trigona

PENDAHULUAN

Atorvastatin merupakan golongan statin yang secara kompetitif menghambat enzim 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-

CoA) *reductase* sehingga mencegah konversi HMG-CoA menjadi asam mevalonate. Hal tersebut menyebabkan penurunan produksi kolesterol endogen. Selain itu, atorvastatin

meningkatkan jumlah reseptor LDL di permukaan sel hepatik ([Lindsey et al., 2020](#)). Popularitas penggunaan statin berdasarkan beberapa alasan yaitu selain menunjukkan efek samping yang relatif minimal dan dapat ditoleransi dengan baik, statin juga dikaitkan dengan efek pleiotropik atau efek menguntungkan pada sistem kardiovaskular ([Mathur, Ramasubbu and Mann, 2008](#)).

Selain efek pleiotropik, statin juga tidak lepas dari efek samping yang membahayakan seperti rhabdomyolisis. Rhabdomyolisis merupakan efek samping yang jarang tetapi merupakan masalah klinik yang serius pada penggunaan semua jenis statin. Kasus kejadian rhabdomyolisis pada penggunaan atorvastatin lebih banyak dibandingkan obat golongan statin lainnya. Rhabdomyolisis adalah sindrom yang ditandai oleh nekrosis otot dan pelepasan konten otot intraseluler ke dalam sirkulasi sistemik yang ditandai dengan elevasi CK, AST, ALT ([Mendes, Robles and Mathur, 2014](#)).

Pelepasan protein otot atau mioglobin ke dalam darah pada kondisi rhabdomyolisis akan menyebabkan mioglobinuria. Mioglobinuria merupakan suatu keadaan adanya mioglobin dalam urin yang dapat memicu terjadinya gagal ginjal ([Petejova and Martinek, 2014](#))([Nayak and Jindal, 2015](#)). Studi melaporkan bahwa atorvastatin dapat menyebabkan terjadinya *acute kidney disease* (AKI) dengan hasil biopsi ginjal menunjukkan terjadinya *acute interstitial nephritis* ([Annigeri and Mani, 2015](#)).

Mekanisme kerusakan ginjal akibat pelepasan mioglobin ke dalam sirkulasi sistemik adalah terjadi vasokonstriksi renal, heme pada mioglobin bersifat sitotoksik, pembentukan *intraluminal cast*. Di tubulus ginjal mioglobin akan dikatabolisme dan melepaskan ion Fe²⁺ yang selanjutnya akan mengalami oksidasi menjadi bentuk Fe³⁺. Hal ini akan menyebabkan pembentukan radikal hidroksil yang akan merusak lapisan epitel tubulus. Selain itu, mioglobin juga menyebabkan terjadinya stress oksidatif melalui pembentukan ROS yang berlebih ([Nayak and Jindal, 2015](#)).

Beberapa upaya telah dilakukan untuk meminimalkan efek samping dari penggunaan statin, diantaranya yaitu penggunaan ubiquinon (CoQ10). Ubiquinon efektif memperbaiki fungsi ginjal yang dikaitkan dengan efek antioksidannya ([Ishikawa et al., 2011a](#)). Suplementasi ubiquinon (CoQ10) memiliki efek perlindungan terhadap sel tubulus ginjal karena dapat mencegah terjadinya stress oksidatif ([Arany et al., 2017](#)).

Selain CoQ10, beberapa senyawa yang berasal dari bahan alam juga berpotensi dalam

pengecahan efek samping statin. Hal ini dikaitkan dengan aktivitas antioksidan dari senyawa tersebut, misalnya senyawa fenolik. Senyawa fenolik dilaporkan terdapat di dalam madu. Hasil penelitian tentang efek madu terhadap kerusakan ginjal yang diberikan secara oral terbukti mencegah perdarahan dan infiltrasi sel radang ginjal tikus putih yang diinduksi aspirin dengan dosis toksik ([Ndagu, Berata and Gde Arjana, 2013](#)). Madu juga terbukti memiliki efek protektif terhadap kerusakan ginjal yang diinduksi boraks ([Marantika, 2015](#)).

Penelitian terkait efek madu dalam memperbaiki kerusakan ginjal telah banyak dilaporkan. Namun, penelitian menggunakan madu trigona yang merupakan produk dari lebah Trigona (*Trigona sp*) belum banyak dieksplor. Berbeda dengan madu yang dihasilkan oleh genus Apis, madu trigona memiliki kadar antioksidan yang lebih tinggi ([Rao et al., 2016](#)). Madu trigona dilaporkan memiliki kandungan antioksidan tinggi dikaitkan dengan senyawa fenolik ([da Silva et al., 2013](#)). Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian bagaimana efek pemberian madu trigona terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi atorvastatin.

METODE

Material

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang dibeli dari tempat pemeliharaan tikus Metro FC Surabaya dengan bobot 200-300 g sebanyak 21 ekor, atorvastatin tab 20 mg, aquadest, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol absolut, kapas, madu trigona (berasal dari Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin, Bengo-Bengo Maros), NaCMC 0,5%, pakan pellet AD II, paraffin cair, tween 80 5%, ubiquinon (Coenzim Q10) dan xilol.

Penyiapan Suspensi NaCMC 0,5% b/v

Sebanyak 0,5 gram NaCMC dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam lumpang lalu dicampurkan dengan air suling suhu 70°C dan digerus hingga terbentuk suspensi NaCMC. Suspensi kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dicukupkan hingga batas penanda.

Penyiapan Suspensi Atorvastatin 20 mg/kgBB

Lima tablet atorvastatin 20 mg digerus dalam lumpang lalu dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah dikalibrasi 32 mL. Kemudian, atorvastatin didispersikan dengan NaCMC 0,5% b/v sedikit demi sedikit hingga homogen dan dicukupkan hingga batas penanda.

Penyiapan Larutan Madu Trigona

Dibuat dengan beberapa variasi yaitu 1,5 ml/kgBB, 3 ml/kgBB dan 4,5 ml/kgBB.

Penyiapan Tween 80 5% v/v

Tween 80 merupakan pelarut fase minyak yang digunakan untuk melarutkan Coenzim Q10 dengan cara sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam gelas beaker yang telah dikalibrasi 100 mL. Kemudian aquadest dimasukkan sedikit demi sedikit dan dilakukan pengadukan agar homogen. Setelah homogen, dicukupkan dengan aquadest hingga 100 mL.

Penyiapan Suspensi Ubiquinon (Coenzim Q10)

Satu kapsul dilarutkan dengan menggunakan sedikit tween 80 hingga terdispersi dengan baik, kemudian dicukupkan hingga 12 mL dengan tween 80 5%.

Penyiapan dan Perlakuan Hewan Uji

Proses adaptasi dilakukan terhadap hewan uji selama tujuh hari dengan pemberian pakan pellet AD II. Hewan uji dibagi dalam tujuh kelompok perlakuan yaitu sebagai berikut:

- Kelompok 1(kontrol normal) mendapatkan NaCMC 0,5%
- Kelompok 2 (kontrol negatif) mendapatkan atorvastatin 20 mg/kg selama 3 minggu dan 40 mg/kg selama 2 minggu
- Kelompok 3 (kontrol positif) mendapatkan ubiquinon (CoQ10) 100 mg/KgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin 20 mg/kg selama 3 minggu dan 40 mg/kg selama 2 minggu
- Kelompok 4 (kontrol madu) mendapatkan madu 4,5 ml/kgBB
- Kelompok 5 (kelompok perlakuan 1) mendapatkan madu 1,5 ml/kgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin 20 mg/kg selama 3 minggu dan 40 mg/kg selama 2 minggu
- Kelompok 6 (kelompok perlakuan 2) mendapatkan madu 3 ml/kgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin 20 mg/kg selama 3 minggu dan 40 mg/kg selama 2 minggu
- Kelompok 7 (kelompok perlakuan 3) mendapatkan madu 4,5 ml/kgBB 2 jam sebelum induksi atorvastatin 20 mg/kg selama minggu dan 40 mg/kg selama 2 minggu

Prosedur Pengambilan Organ

Setelah diberi perlakuan selama 5 minggu, hewan uji dianestesi dengan cara dimasukkan ke dalam toples berisi kapas yang telah diberi eter.

Masing-masing tikus dibedah menggunakan pisau bedah dan diambil organ ginjal. Setelah itu, organ dimasukkan kedalam wadah berisi formalin (BNF) 10%.

Prosedur Pemeriksaan Histopatologi Organ Ginjal

Perendaman Jaringan dengan Larutan Buffered Neutral Formalin (BNF)10%

Agar fiksasi berlangsung sempurna, maka perbandingan antara organ dan larutan yaitu 1 : 10, sedangkan lamanya fiksasi selama 2 hari.

Proses Pembuatan Preparat Histologi

Memotong Jaringan Organ

Setelah jaringan organ yang berada di dalam larutan fiksatif matang, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 0,3-0,5 mm dan disusun kedalam tissue cassette, kemudian sejumlah tissue cassette dimasukkan ke dalam keranjang khusus.

Proses Dehidrasi

Keranjang yang di dalamnya berisi jaringan organ, dimasukkan kedalam mesin processor otomatis. Selanjutnya jaringan mengalami proses dehidrasi bertahap dengan putaran waktu sebagai berikut : etanol 70% (2 jam), etanol 80% (2 jam), etanol 90% (2 jam), etanol absolut (2 jam), xylol (2 jam), parafin cair (2 jam). Selanjutnya keranjang yang berisi tissue cassette dikeluarkan untuk dilakukan proses selanjutnya.

Vakum

Setelah proses dehidrasi dilakukan, kemudian dilanjutkan dengan penghilangan udara dari jaringan dengan menggunakan mesin vakum yang di dalamnya terdapat tabung untuk menyimpan keranjang yang diisi parafin cair dengan temperatur (59-60°C) dan di vakum selama 30 menit. Keranjang diangkat, tissue cassette dikeluarkan dan disimpan pada temperatur 60°C untuk sementara waktu sebelum pencetakan dilakukan pada parafin cair.

Mencetak Blok Parafin

Cetakan dari bahan stainless steel dihangatkan di atas api bunsen, lalu ke dalam setiap cetakan dimasukkan jaringan sambil diatur dan sedikit ditekan. Sementara itu, di tempat lain telah disiapkan parafin cair dalam tempat khusus, sehingga dicapai suhu 60°C. Parafin cair tersebut dituangkan kedalam jaringan sampai seluruh jaringan terendam parafin. Parafin dibiarkan membeku di atas mesin pendingin. Selanjutnya blok parafin dilepas dari cetakan dan disimpan di freezer (-20°C) sebelum dilakukan pemotongan.

Memotong Blok Jaringan

Blok parafin yang mengandung jaringan, kemudian dipotong dengan menggunakan mesin

mikrotom dengan ketebalan berkisar 3-4 μm . Potongan tersebut diletakkan secara hati-hati di atas permukaan air dalam waterbath bersuhu 46°C . Bentuk irisan dirapikan, kemudian diletakkan di atas kaca objek yang telah diolesi ewith, yang berfungsi sebagai perekat. Kaca objek dengan jaringan di atasnya disusun di dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam inkubator bersuhu 60°C sampai preparat siap untuk diwarnai.

Proses Pewarnaan Hematoksin dan Eosin

Proses pewarnaan melalui beberapa tahap yaitu, deparafinasi, rehidrasi, pewarnaan I, pewarnaan II, dan dehidrasi.

Pengamatan Histologi

Preparat yang telah selesai dibuat, dilakukan pengamatan dengan mikroskop, kemudian dibuat foto dengan perbesaran 40X dan hasil foto dikumpulkan. Pengamatan dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi di Balai Besar Veteriner Maros. Penilaian dilakukan dengan memberikan skor terhadap kondisi jaringan ginjal pada masing-masing kelompok. Aspek yang dinilai berdasarkan lapang pandang diberikan skor 0 apabila kondisi sel normal; 1 apabila derajat kerusakan ringan; 2 apabila derajat kerusakan sedang; 3 apabila derajat kerusakan berat.

HASIL

Tabel 1. Hasil skoring berdasarkan lapang pandang histopatologi organ ginjal tikus (*Rattus norvegicus*) setelah perlakuan selama lima minggu

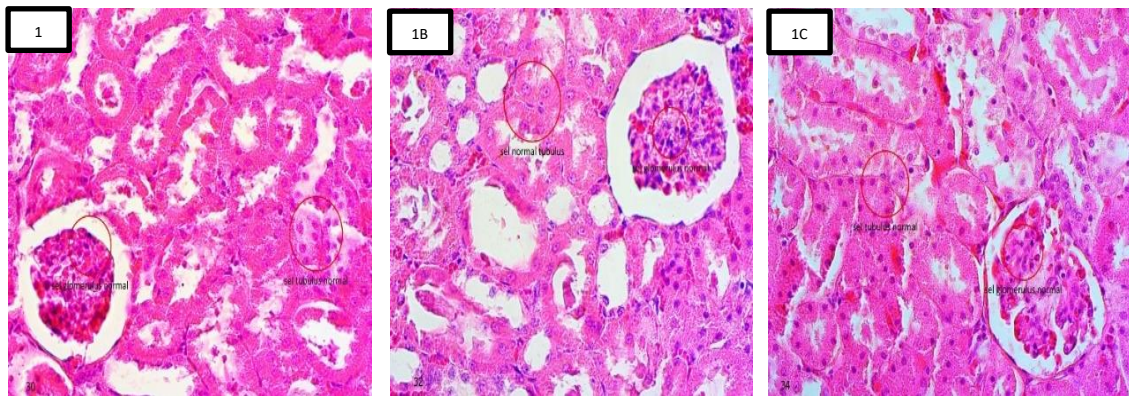
Kelompok Hewan Uji	Nilai Skoring			Rata – rata
	I	II	III	
Kontrol Normal (NaCMC 0,5%)	0	0	0	0
Kontrol Negatif (Atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu)	2	3	3	2,7
Kontrol Positif (CoQ10 100 mg/kgBB + Atorvastatin 20 mg/kgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/kgBB selama 2 minggu)	0	0	0	0
Kontrol Madu 4,5 mL/KgBB	0	0	0	0
Kelompok Perlakuan 1 (Madu 1,5 mL/KgBB + atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu)	2	2	2	2
Kelompok Perlakuan 2 (Madu 3 mL/KgBB + atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu)	0	1	0	0,3
Kelompok Perlakuan 3 (Madu 4,5 mL/KgBB + atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu)	0	0	0	0

Keterangan nilai skoring :

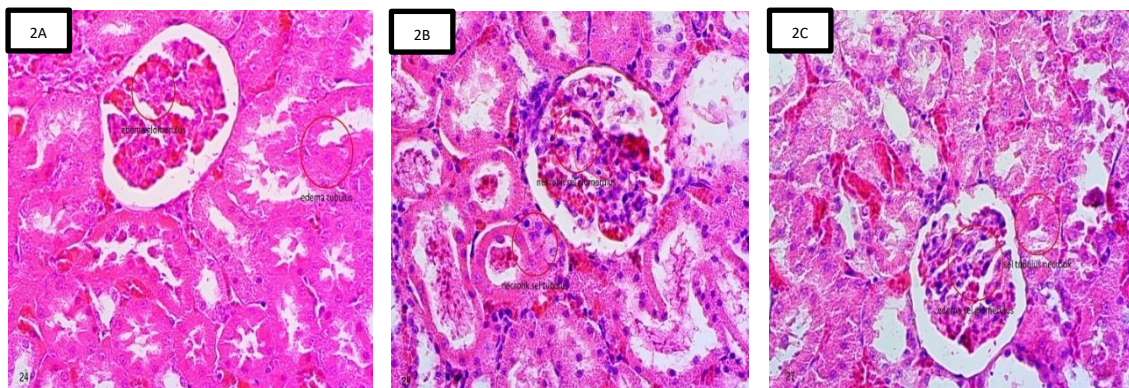
- 0: Tidak terjadi kerusakan (normal)
- 1: Kerusakan ringan $\leq 25\%$ bagian (edema sel glomerulus)
- 2: Kerusakan sedang antara 25-50% (edema sel glomerulus dan sel tubulus)
- 3: Kerusakan berat 50-75% (nekrosis sel tubulus dan sel glomerulus)

Data kualitatif tingkat kerusakan pada organ ginjal tikus setelah pemeriksaan histopatologi ditekankan pada kerusakan sel tubulus dan sel glomerulus ginjal. Hasil pada tabel 1 menunjukkan tingkat kerusakan yang paling tinggi yaitu pada kontrol negatif dengan derajat kerusakan rata-rata 2,7 (sekitar 50-75% bagian mengalami edema tubulus dan glomerulus, nekrosis tubulus dan glomerulus). Selanjutnya,

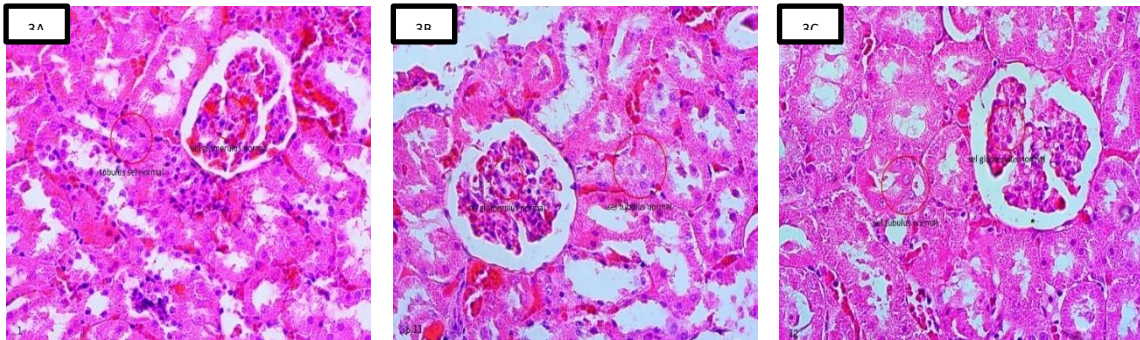
Kelompok perlakuan 1 memiliki derajat kerusakan 2 yang mengindikasikan bahwa sekitar 25-50% bagian yang mengalami edema tubulus dan glomerulus. Kelompok perlakuan 2 menunjukkan kerusakan yang lebih kecil yaitu <25% bagian yang mengalami edema pada sel glomerulus. Kelompok kontrol normal, kontrol positif, kontrol madu, dan kelompok perlakuan 3 menunjukkan sel ginjal yang normal (skor 0).



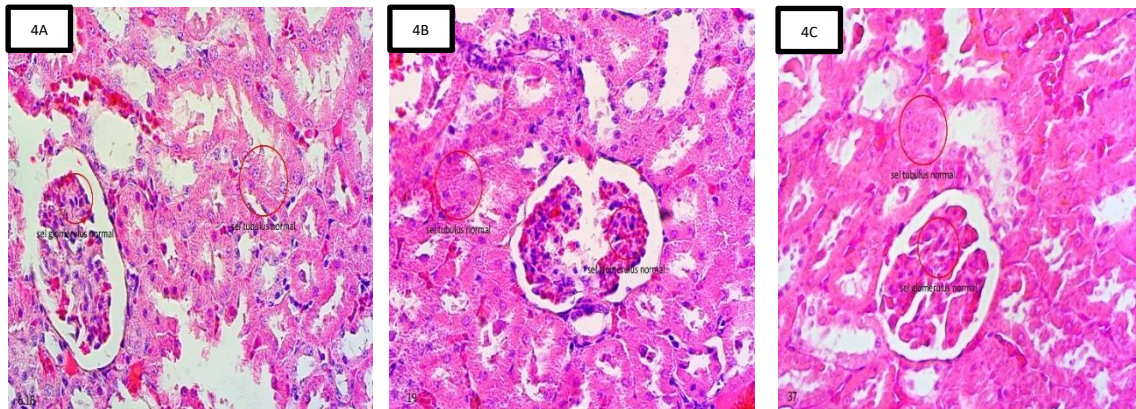
Gambar 1. Histopatologi ginjal tikus kontrol normal yang diberikan Na-CMC 0,5% selama 5 minggu. 1A, 1B, dan 1C menunjukkan sel glomerulus dan tubulus normal dengan nilai skor 0 (tidak terjadi kerusakan).



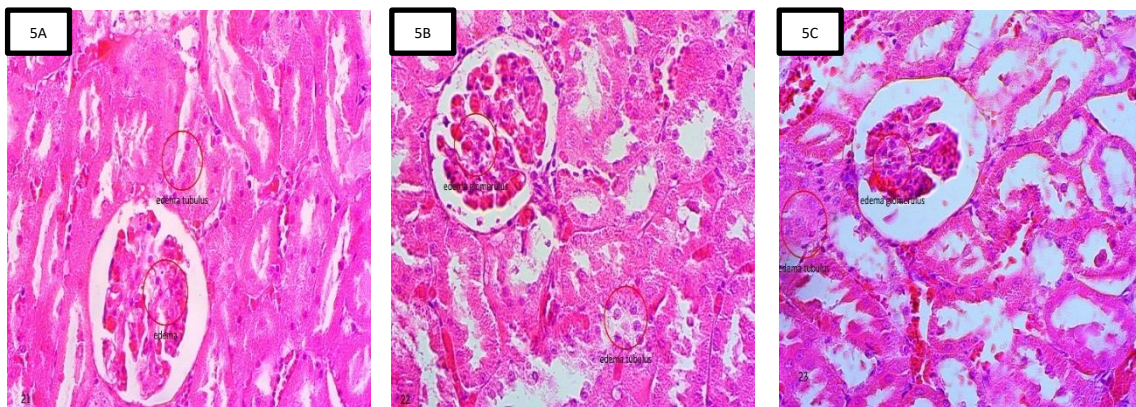
Gambar 2. Histopatologi ginjal tikus kontrol Negatif yang diberikan Atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu. 2A menunjukkan edema glomerulus dan tubulus dengan skor 2 (kerusakan sedang antara 25-50%), 2B menunjukkan nekrotik glomerulus dan tubulus dengan skor 3 (kerusakan berat 50-75%), 2C menunjukkan edema glomerulus dan nekrotik tubulus dengan skor 3 (kerusakan berat 50-75%).



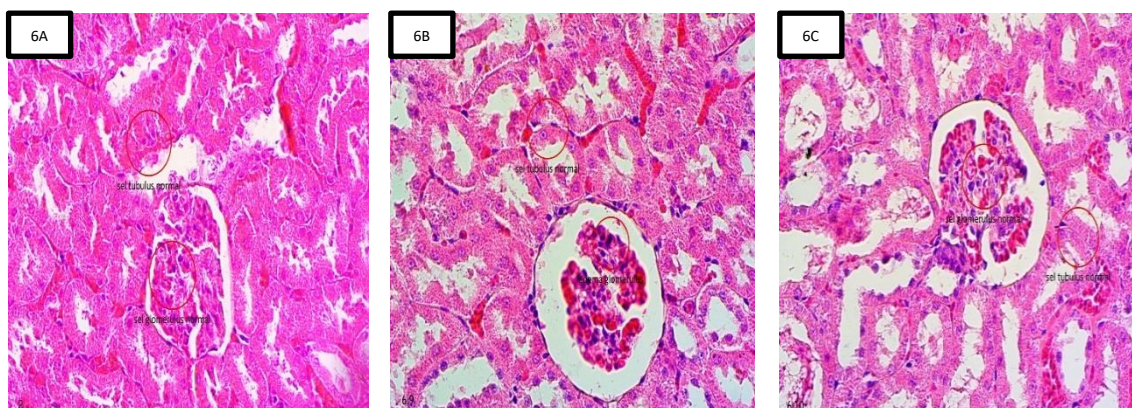
Gambar 3. Histopatologi ginjal tikus Kontrol Positif yang diberikan CoQ10 100 mg/kgBB + Atorvastatin 20 mg/kgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/kgBB selama 2 minggu. 3A, 3B, 3C masing – masing mempunyai nilai skor 0 menunjukkan sel glomerulus dan tubulus normal.



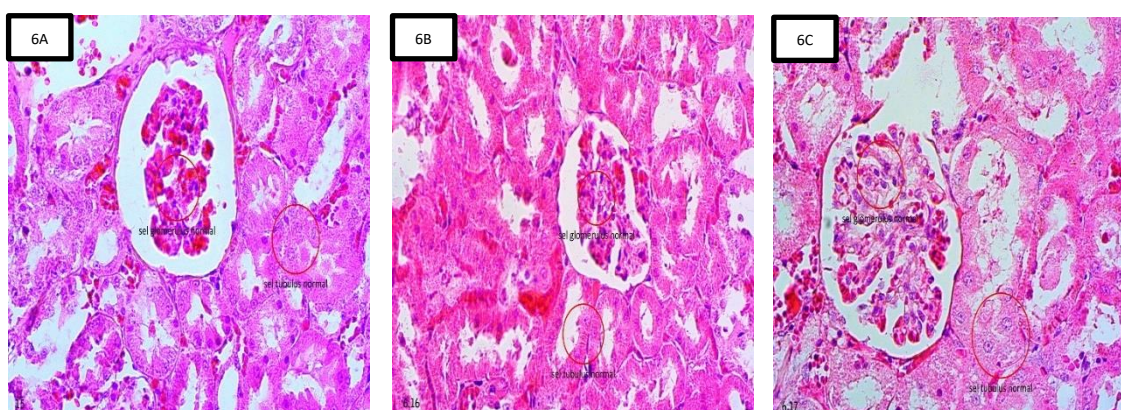
Gambar 4. Histopatologi ginjal tikus yang diberikan Madu 4,5 mL/KgBB selama lima minggu. 4A, 4B, dan 4C dengan nilai skor 0 menunjukkan sel glomerulus dan sel tubulus normal.



Gambar 5. Histopatologi ginjal tikus Kelompok Perlakuan 1 yang diberikan madu 1,5 mL/KgBB + atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu. 5A, 5B, 5C menunjukkan edema glomerulus dan tubulus dengan skor 2 (kerusakan sedang antara 25-50%)



Gambar 6. Kelompok Perlakuan 2 yang diberikan madu 3 mL/KgBB + atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu. 6A dan 6C menunjukkan sel glomerulus dan tubulus normal dengan skor 0, 6B menunjukkan edema glomerulus dan sel tubulus normal dengan skor 1 (kerusakan ringan $\leq 25\%$ bagian).



Gambar 7. Kelompok Perlakuan 3 yang diberikan madu 4,5 mL/KgBB + atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan 40 mg/KgBB selama 2 minggu. 7A, 7B, 7C menunjukkan sel glomerulus dan sel tubulus normal dengan skor 0.

PEMBAHASAN

Penelitian yang dilakukan menggunakan madu trigona sebagai upaya untuk mencegah efek samping penggunaan atorvastatin pada organ ginjal. Madu trigona memiliki kandungan antioksidan yang dikaitkan dengan kadar fenolik total yang tinggi. Hal tersebut dikonfirmasi dalam suatu penelitian yang menunjukkan bahwa madu trigona memiliki kandungan fenolik dan quersetin yang tinggi (Usman *et al.*, 2016). Penelitian lain menggunakan madu trigona untuk melihat parameter ureum menunjukkan bahwa pemberian madu trigona 7,5% menghasilkan kadar ureum yang lebih rendah dibanding kelompok yang diberikan simvastatin (Mamada *et al.*, 2018).

Untuk menentukan derajat kerusakan ginjal pada tikus, dilakukan penilaian skoring berdasarkan lapang pandang. Gambaran histopatologi ginjal pada kelompok kontrol normal (Gambar 1) menunjukkan derajat

kerusakan 0 yang mengindikasikan bahwa tidak terjadi kerusakan pada sel tubulus dan sel glomerulus atau sel dalam kondisi normal. Sedangkan gambaran histopatologi ginjal tikus (Gambar 2) pada kontrol negatif yang diberikan atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan dengan induksi dosis 40 mg/KgBB selama 2 minggu menunjukkan sel tubulus dan sel glomerulus mengalami edema (Gambar 2A), sel tubulus dan sel glomerulus mengalami nekrosis (Gambar 2B & 2C). Induksi atorvastatin selama lima minggu menyebabkan terjadinya kerusakan pada bagian glomerulus dan tubulus. Mekanisme kerusakan tersebut dikaitkan dengan efek samping rabdiomiolisis pada penggunaan atorvastatin.

Rabdiomiolisis adalah efek samping statin yang jarang tetapi sangat berimplikasi secara klinik yang ditandai oleh kerusakan otot parah (Mendes, Robles and Mathur, 2014). Rabdiomiolisis dapat ditandai dengan pelepasan mioglobin ke dalam pembuluh darah

menyebabkan mioglobinuria dan peningkatan kadar *creatinine kinase* (CK) ([Petejova and Martinek, 2014](#)) ([Nayak and Jindal, 2015](#)). Studi menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar CK pada tikus yang diinduksi atorvastatin ([Salampe, Kabo and Djabir, 2018](#)).

Mioglobin merupakan protein yang berfungsi mengikat oksigen dan besi di dalam miosit. Pelepasan mioglobin kedalam pembuluh darah menyebabkan terjadinya mioglobinuria yang diasosiasikan dengan *acute kidney injury* (AKI). Patofisiologi AKI yang disebabkan oleh mioglobin meliputi tiga proses yaitu, vasokonstriksi ginjal, pembentukan *intratubular casts*, dan mioglobin bersifat toksik secara langsung pada sel tubular. Akan tetapi, secara keseluruhan patofisiologi molekular kerusakan tubulus oleh mioglobin dikaitkan dengan *reactive oxygen species* (ROS) yang secara langsung merusak tubulus. Overproduksi ROS menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid yang ditandai oleh peningkatan malondialdehyde (MDA) ([Petejova and Martinek, 2014](#)) ([Nayak and Jindal, 2015](#)). Hal tersebut juga dikonfirmasi pada penelitian lain yang menunjukkan bahwa atorvastatin menyebabkan peningkatan kadar MDA pada tikus ([Salampe, Kabo and Djabir, 2018](#)).

Gambaran histopatologi ginjal tikus ([Gambar 3](#)) pada kontrol positif menunjukkan sel glomerulus dan tubulus dalam kondisi normal. CoQ10 atau Ubiquinon merupakan komponen yang berperan pada proses *mitochondrial electron transport chain* (ETC). CoQ10 juga merupakan salah satu isoprenoid yang dihasilkan pada jalur sintesis kolesterol. Penggunaan golongan statin selain menghambat sintesis kolesterol endogen melalui jalur asam mevalonate, juga menghambat produksi beberapa zat endogen isoprenoid nonsteroid seperti protein prenilasi, *dolichol*, *isopentenyladenosine* dan *coenzyme Q* (*ubiquinone*) ([Beltowski, 2008](#)). Penggunaan CoQ10 telah dilaporkan dapat meminimalisir efek samping pada penggunaan statin ([Marques et al., 2018](#)).

CoQ10 selain sebagai komponen dalam proses ETC juga berperan sebagai antioksidan sehingga efek inilah yang dapat mencegah terjadinya stress oksidatif di ginjal akibat pelepasan mioglobin. Menurut study, CoQ10 dapat melindungi tubulus proksimal dari stress oksidatif melalui mekanismenya sebagai antioksidan dan antiapoptosis ([Arany et al., 2017](#)) ([Ishikawa et al., 2011b](#)).

Gambaran histopatologi ginjal tikus ([Gambar 4](#)) pada kontrol madu juga menunjukkan sel glomerulus dan tubulus dalam

kondisi normal. Kelompok tikus pada kontrol madu merupakan tikus yang tidak diinduksi atorvastatin, tetapi merupakan kelompok pembanding penggunaan madu trigona pada kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi kerusakan sel yang mengindikasikan bahwa madu tidak memiliki efek merugikan pada organ ginjal. Madu dilaporkan memiliki efek antioksidan dan memberikan perlindungan pada organ ginjal ([Ndagu, Berata and Gde Arjana, 2013](#)) ([Marantika, 2015](#)) dan pemberian madu pada tikus yang diinduksi atorvastatin mencegah terjadinya stress oksidatif ([Salampe, Kabo and Djabir, 2018](#)).

Gambaran histopatologi ginjal tikus pada kelompok perlakuan 1 ([Gambar 5](#)) yang diberikan madu trigona dua jam sebelum induksi atorvastatin menunjukkan terjadinya edema glomerulus dan tubulus. Pemberian madu dengan dosis 1.5 ml/kgBB belum mampu mencegah kerusakan yang diakibatkan oleh pemberian atorvastatin 20 mg/KgBB selama 3 minggu dan dilanjutkan dengan induksi dosis 40 mg/KgBB selama 2 minggu. Selain itu, Pemberian madu trigona dosis 3 ml/kgBB pada kelompok perlakuan 2 ([Gambar 6](#)) masih menunjukkan terjadinya kerusakan ringan $\leq 25\%$ bagian pada sel glomerulus. Sedangkan pemberian madu trigona dosis 4,5 ml/kgBB pada kelompok perlakuan 2 sudah mampu mengembalikan sel glomerulus dan tubulus menjadi normal ([Gambar 7](#)).

Penelitian menyebutkan bahwa madu memiliki kandungan senyawa flavonoid ([Vadasery, 2015](#)). Flavonoid telah diketahui memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi. Mekanisme antioksidan senyawa flavonoid yaitu, secara langsung meredam radikal bebas (*scavenger free radical*) dengan mendonorkan atom hidrogen, membentuk ikatan khelat dengan metal seperti Fe²⁺ dan Cu⁺ sehingga mencegah metabolisme oksigen dan pembentukan radikal. Selain itu, flavonoid menghambat enzim yang menghasilkan radikal bebas seperti, *xanthine oxidase*, *lipoxigenase*, *protein kinase C*, *cyclooxygenase*, *microsomal monoxygenase*, *mitochondrial succinoxidase*, dan *NADPH oxidase* ([Banjarnahor and Artanti, 2014](#)).

Berdasarkan hasil histopatologi ginjal tikus pada gambar 7, madu trigona dosis 4,5 ml/kgBB memiliki efek proteksi terhadap kerusakan ginjal pada penggunaan atorvastatin. Aktivitas antioksidan madu dapat mencegah terjadinya stress oksidatif. Oleh karena itu, penggunaan antioksidan merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah efek samping penggunaan atorvastatin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa suplementasi madu trigona dosis 4,5 ml/kg BB dapat mencegah kerusakan ginjal tikus putih yang diinduksi atorvastatin dosis tinggi.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek madu trigona dalam mencegah miotoksisitas akibat efek samping penggunaan statin.

DAFTAR PUSTAKA

- Annigeri, R. and Mani, R. (2015) 'Acute interstitial nephritis due to statin and its class effect', *Indian Journal of Nephrology*, 25(1), pp. 54–56. doi: 10.4103/0971-4065.136883.
- Arany, I. *et al.* (2017) 'Coenzyme Q10 protects renal proximal tubule cells against nicotine-induced apoptosis through induction of p66shc-dependent antioxidant responses', *Apoptosis*, pp. 220–228. doi: 10.1007/s10495-016-1309-3.
- Banjarnahor, S. D. S. and Artanti, N. (2014) 'Antioxidant properties of flavonoids', *Medical Journal of Indonesia*, 23(4), pp. 239–244. doi: 10.13181/mji.v23i4.1015.
- Beltowski, J. (2008) 'Statins and Modulation of Oxidative Stress', *Toxicology Mechanisms*, pp. 61–92.
- Ishikawa, A. *et al.* (2011a) 'Renal preservation effect of ubiquinol, the reduced form of coenzyme Q10', *Clinical and Experimental Nephrology*, 15(1), pp. 30–33. doi: 10.1007/s10157-010-0350-8.
- Ishikawa, A. *et al.* (2011b) 'Renal preservation effect of ubiquinol, the reduced form of coenzyme Q10', *Clinical and Experimental Nephrology*, 15(1), pp. 30–33. doi: 10.1007/s10157-010-0350-8.
- Lindsey, A. *et al.* (2020) *Atorvastatin - lindsey*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430779/>.
- Mamada, S. S. *et al.* (2018) 'Pengaruh Suplementasi Madu Trigona terhadap Parameter Fungsi Hati dan Ginjal Tikus Albino (*Rattus norvegicus*) yang Diberikan Simvastatin', *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy (e-Journal))*, 4(1), pp. 36–43. doi: 10.22487/j24428744.2018.v4.i1.9960.
- Marantika, A. (2015) 'Efek Madu Terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal yang Diinduksi Boraks', *Majority*, 4(November), pp. 37–40.
- Marques, A. *et al.* (2018) 'Coenzyme Q10 or Creatine Counteract Pravastatin-Induced Liver Redox Changes in Hypercholesterolemic Mice', *Frontiers in Pharmacology*, p. 685. doi: 10.3389/fphar.2018.00685.s003.
- Mathur, N., Ramasubbu, K. and Mann, D. L. (2008) 'Pleiotropic effects of statins', *Heart Failure Clinics*, pp. 153–161. doi: 10.1016/j.hfc.2008.01.007.
- Mendes, P., Robles, P. G. and Mathur, S. (2014) 'Statin-induced rhabdomyolysis: A comprehensive review of case reports', *Physiotherapy Canada*, 66(2), pp. 124–132. doi: 10.3138/ptc.2012-65.
- Nayak, S. and Jindal, A. (2015) 'Myoglobinuria and Acute Kidney Injury', *Journal of Integrative Nephrology and Andrology*, 2(2), p. 50. doi: 10.4103/2225-1243.155775.
- Ndagu, L., Berata, I. and Gde Arjana, A. (2013) 'Madu Berefek Protektif Terhadap Infiltrasi Sel Radang Dan Perdarahan Ginjal Akibat Induksi Aspirin', *Indonesia Medicus Veterinus*, 2(1), pp. 102–114.
- Petejova, N. and Martinek, A. (2014) 'Rhabdomyolysis (CC 2014)', *Petejova and Martinek Critical Care*, pp. 1–8.
- Rao, P. V. *et al.* (2016) 'Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: A comparative review', *Brazilian Journal of Pharmacognosy. Sociedade Brasileira de Farmacognosia*, 26(5), pp. 657–664. doi: 10.1016/j.bjp.2016.01.012.
- Salampe, M., Kabo, P. and Djabir, Y. Y. (2018) 'Pengaruh Madu Trigona Terhadap Stress Oksidatif Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Statin Untuk Mencegah Miotoksisitas', *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 22(2), p. 35. doi: 10.20956/mff.v22i2.5697.
- Da Silva, I. A. A. *et al.* (2013) 'Phenolic profile, antioxidant activity and palynological analysis of stingless bee honey from Amazonas, Northern Brazil.', *Food chemistry*, 141(4), pp. 3552–3558. doi:

10.1016/j.foodchem.2013.06.072.

Usman, A. N. *et al.* (2016) 'Nutrient Content and pH of Honey Propolis Trigona from Masamba, South Sulawesi Indonesia', *International Journal of Sciences : Basic and Applied Research*, 26(3), pp. 246–

251.

Vadasery, K. (2015) 'Phytochemical screening and antioxidant activity of different bee honeys', *Journal of Medicinal Herbs and Ethnomedicine*, 1, p. 38. doi: 10.5455/jmhe.2015-07-013.

