

EVALUASI HISTOLOGI GLOMERULUS DAN SEL TUBULUS GINJAL MENCIT: PERUBAHAN AKIBAT INDUKSI ROTENONE DAN PENGARUH PEMBERIAN THYMOQUINONE SERTA MADECASSOSIDE

Tsuraya Haanii Herza Putri¹, Arif Yahya², Shinta Kusumawati^{3*}

¹Universitas Islam Malang.

Email : tsuraya207@gmail.com

²Universitas Islam Malang.

Email : arifyahya@unisma.ac.id

³Universitas Islam Malang.

Email : shinta@unisma.ac.id

Corresponding author : **Shinta Kusumawati**

ABSTRAK

Penelitian ini mengevaluasi nefroprotektif thymoquinone, madecassocide, dan kombinasinya terhadap kerusakan ginjal akibat rotenone pada mencit. Rotenone, neurotoksin, memicu stres oksidatif dan kerusakan sel ginjal. Studi in vivo ini menggunakan 24 mencit jantan Swiss (delapan kelompok). Tujuh kelompok diinduksi rotenone (2,5 mg/kg subkutan). Perlakuan oral diberikan setiap 48 jam selama 20 hari: thymoquinone tunggal (15 mg/kg), madecassocide tunggal (15 mg/kg), kombinasi thymoquinone (7,5; 10; atau 15 mg/kg) dengan madecassocide (15 mg/kg), dan pramipexole (1 mg/kg). Perlindungan dinilai melalui histologi ginjal (diameter glomerulus, persentase nekrosis tubulus proksimal) menggunakan pewarnaan HE dan Image J. Data dianalisis dengan uji ANOVA Welch dan Kruskal-Wallis. Hasil statistik, rotenone 2,5 mg/kg tidak mengubah diameter glomerulus ($p=0,091$), namun meningkatkan nekrosis sel tubulus signifikan pada kontrol positif ($p=0,046$). Madecassocide tunggal (P2) dan kombinasinya (P3, P4, P5) secara signifikan menurunkan nekrosis sel tubulus dibanding kontrol positif. Thymoquinone tunggal dosis tinggi (P1, 15 mg/kg) juga efektif ($p=0,046$), namun P1 dan P3 belum sepenuhnya normal. Pramipexole (P6) tidak signifikan mengurangi nekrosis tubulus ($p=0,072$). Rotenone 2,5 mg/kg tidak mempengaruhi diameter glomerulus, rotenone efektif meningkatkan nekrosis sel tubulus. Madecassocide dan kombinasinya efektif mengurangi nekrosis tubulus. Thymoquinone tunggal dan kombinasi dosis rendah juga protektif, meski belum mencapai normal. Pramipexole tidak menunjukkan efek nefroprotektif signifikan.

Kata Kunci: Nefroproteksi, Nefrotoksik, Rotenone, Thymoquinone, Madecassoside

ABSTRACT

Research evaluated thymoquinone, madecassoside, and combination nephroprotective potential against rotenone-induced kidney damage in mice. Rotenone, a neurotoxin, triggers oxidative stress and kidney cell damage. This in vivo study used 24 male Swiss mice (eight groups). Seven groups were rotenone-induced (2.5 mg/kg subcutaneously). Oral treatments were given every 48 hours for 20 days: single-dose thymoquinone (15 mg/kg), single-dose madecassoside (15 mg/kg), combinations of thymoquinone (7.5; 10; or 15 mg/kg) with madecassoside (15 mg/kg), and pramipexole (1 mg/kg).



Protection was assessed via kidney histology (glomerular diameter, proximal tubule necrosis percentage) using HE staining and Image J. Data analyzed with Welch's ANOVA and Kruskal-Wallis tests. Statistical results: rotenone 2.5 mg/kg did not alter glomerular diameter ($p=0.091$), yet significantly increased tubule cell necrosis in positive control ($p=0.046$). Single madecassoside (P2) and its combinations (P3, P4, P5) significantly reduced tubule cell necrosis vs. positive control. High-dose single thymoquinone (P1, 15 mg/kg) was effective ($p=0.046$), though P1 and P3 not fully normalized. Pramipexole (P6) did not significantly reduce tubule necrosis ($p=0.072$). Rotenone 2.5 mg/kg did not affect glomerular diameter, it effectively increased tubule cell necrosis. Madecassoside and its combinations effectively reduced tubule necrosis. Single thymoquinone and low-dose combinations were protective, though not reaching normal. Pramipexole showed no significant nephroprotective effects.

Keywords: Nephroprotection, Nephrotoxicity, Rotenone, Thymoquinone, Madecassoside

PENDAHULUAN

Kerusakan ginjal merupakan masalah kesehatan yang dapat diakibatkan oleh paparan zat toksik lingkungan. Studi in vitro menunjukkan adanya korelasi antara paparan neurotoksin dan risiko kerusakan ginjal (Maduro et al., 2020). Rotenone merupakan neurotoksin yang menginduksi kerusakan seluler dengan menghambat kompleks I pada rantai transpor elektron mitokondria. Proses ini dapat mengganggu produksi ATP, meningkatkan radikal bebas, dan memicu stres oksidatif (Betarbet & Greenamyre, 2008). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa rotenone pada dosis 2 mg/kg dan 4 mg/kg per hari selama 28 hari dapat menyebabkan toksisitas ginjal, ditandai dengan peningkatan BUN dan kreatinin, serta vakuolisasi sel epitel tubulus pada pemeriksaan histologis (Jiang et al., 2017). Mengingat mekanisme kerusakan rotenone melalui stres oksidatif, Thymoquinone telah terbukti memiliki potensi sebagai anti-inflamasi (Shaterzadeh-Yazdi, et al., 2018). Senyawa ini bekerja dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti superoxide dismutase dan katalase, serta meningkatkan kadar glutathione. Selain itu, thymoquinone juga dapat mengurangi ekspresi molekul pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, TNF- α , dan meningkatkan sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 (Ahmad et al., 2013). Demikian pula, Madecassoside, saponin triterpenoid dari *Centella asiatica* yang juga menunjukkan aktivitas anti-inflamasi kuat dengan menekan mediator inflamasi seperti oksida nitrat, PGE2, dan TNF- α . Mekanisme ini melibatkan penghambatan jalur pensinyalan seperti TLR4/MyD88/NF- κ B6. Meskipun potensi individu thymoquinone dan madecassoside dalam mengurangi stres oksidatif telah diketahui, penelitian mendalam mengenai efek kombinasi kedua senyawa ini sebagai nefroprotektif terhadap kerusakan ginjal yang diinduksi rotenone masih terbatas.

METODE PELAKSANAAN

Desain, Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan studi in vivo yang menggunakan metode *post-*

test only control group. Pelaksanaan penelitian berlangsung pada bulan Juni hingga Agustus 2024 di Laboratorium Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Untuk analisis histologi dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan nomor: **100/UN10.F08.11.31/PP/2024**.

Sampel dan Pengelompokan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan Swiss (*Mus musculus*) berumur 8–12 minggu dengan berat 25–30 g ($n = 24$). Hewan coba diperoleh dari Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Karanganyar bekerja sama dengan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia, sesuai Sertifikat Budidaya No. 524/082.19/I/2019 dengan kode strain K-0003. Pemegang sertifikat tercantum di situs kemuning.co.id.

Penelitian ini menggunakan total 24 mencit, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 3 mencit ($n=3$). Selanjutnya dibagi menjadi 8 kelompok dengan pembagian kelompok kontrol negatif (KN) sebagai pembanding dengan asumsi merupakan gambaran sehat histologi ginjal mencit, lalu kelompok kontrol positif dengan pemberian rotenone 2,5 mg/kg. Selain itu, terdapat enam kelompok perlakuan yang menerima rotenone 2,5 mg/kg bersamaan dengan berbagai senyawa uji. Kelompok perlakuan 1 (P1) menerima rotenone 2,5 mg/kg dikombinasikan dengan thymoquinone 15 mg/kg. kelompok perlakuan 2 (P2) mendapatkan rotenone 2,5 mg/kg dan madecassoside 15 mg/kg. Tiga kelompok berikutnya menguji kombinasi rotenone dengan thymoquinone dan madecassoside pada dosis berbeda yaitu, perlakuan 3 (P3) menerima rotenone 2,5 mg/kg, thymoquinone 7,5 mg/kg, dan madecassoside 15 mg/kg, perlakuan 4 (P4) diberikan rotenone 2,5 mg/kg, thymoquinone 10 mg/kg, dan madecassoside 15 mg/kg, dan perlakuan 5 (P5) menggunakan dosis rotenone 2,5 mg/kg, thymoquinone 15 mg/kg, dan madecassoside 15 mg/kg. Terakhir, kelompok perlakuan 6 (P6) diinduksi rotenone 2,5 mg/kg bersamaan dengan pemberian pramipexole 2,5 mg/kg.

Perlakuan pada Hewan Coba *Mus musculus*

Pada hewan dilakukan adaptasi lingkungan selama 7 hari. Setelahnya akan dilakukan induksi Rotenone secara subcutan bersamaan dengan Thymoquinone dan Madecassoside secara peroral dengan waktu pemberian setiap 48 jam sekali. Mencit kemudian dipelihara dalam kandang pada suhu 25–30 °C dengan air minum dan pakan standar.

Setelah 20 hari mencit akan dianestesi dengan ketamin (40–50 mg/kg BB) melalui injeksi intramuskular untuk dilakukan *euthanasia*. Kemudian dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ ginjal dan setelahnya dilakukan pembuatan preparat.

Pembuatan Preparat Histologi Ginjal dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

Ginjal direndam dalam buffer formalin 10% untuk kemudian dilakukan



pemotongan spesimen. Setelahnya spesimen diinfiltasi dengan parafin melalui proses pemanasan. Tahap berikutnya adalah pemotongan jaringan menggunakan mikrotom yang kemudian diletakkan pada slide. Slide dipanaskan untuk menghilangkan parafin dan prosedur diakhiri dengan pewaranaan HE.

Perhitungan Diameter Glomerulus

Pengukuran glomerulus diamati menggunakan mikroskop trinokuler BX53M pada 5 lapang pandang, Selanjutnya perhitungan diameter dengan software *image J* dengan menghitung diameter terpanjang dari glomerulus (diameter mayor) dan diameter yang tegak lurus terhadap diameter terpanjang (diameter minor) kemudian di rerata untuk mendapat nilai diameter glomerulus dan diamati oleh dua orang. Diameter dari kelompok kontrol negatif dengan asumsi gambaran diameter normal dan perlakuan dibandingkan.

Perhitungan Sel Nekrosis pada Tubulus Proksimal

Perhitungan jumlah sel nekrosis secara histologis dilakukan dengan pembesaran 400x, yang diamati menggunakan mikroskop trinokuler BX53M pada 5 lapang pandang, Selanjutnya perhitungan dilakukan dengan *software image J* oleh 2 pengamat yang berbeda. Sel nekrosis didefinisikan dengan adanya perubahan pada sel yang berupa inti piknotik, karioreksis dilakukan dengan rumus sebagai berikut (Hermawan, 2016):

$$\% \text{ Sel nekrosis} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

a= jumlah nekrosis sel tubulus

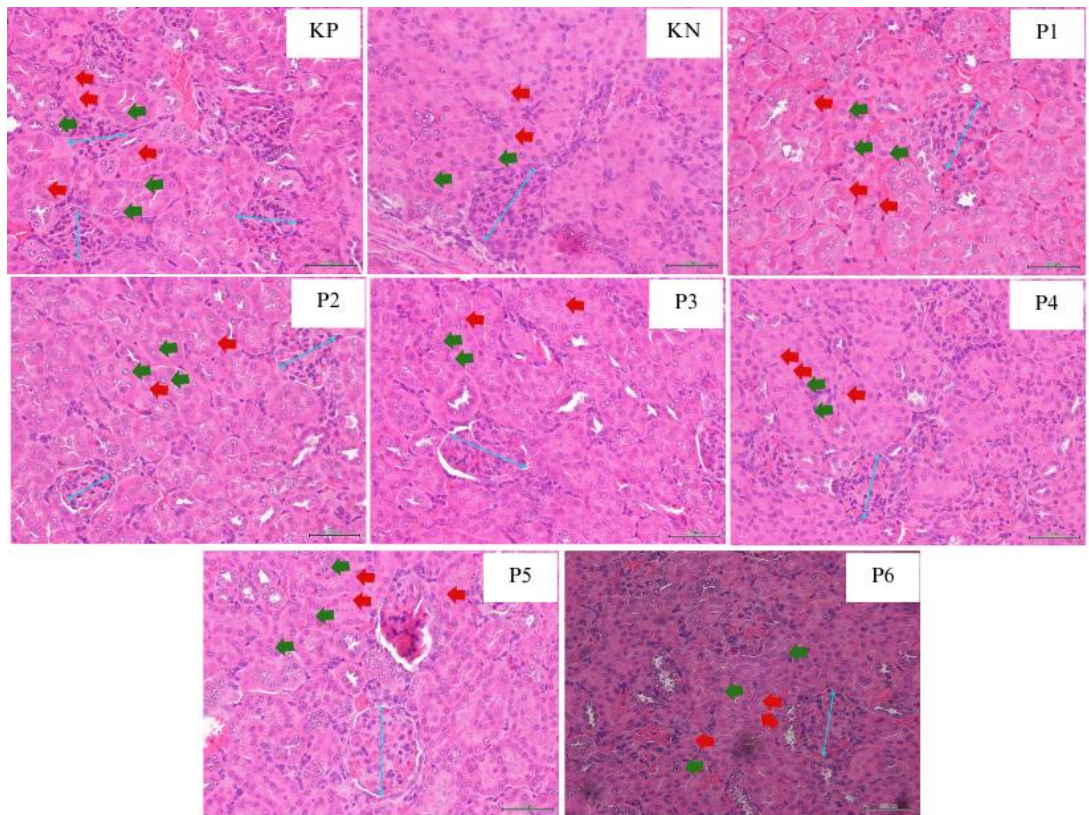
b = total sel epitel tubulus keseluruhan 100 sel Setiap lapang pandang

Analisis Data

Data diberikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ SD. Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 27.0 for Windows. Uji One-way ANOVA) akan diterapkan untuk membandingkan antar-kelompok, diikuti dengan Post Hoc Tukey Test dengan interval kepercayaan 95%, jika asumsi normalitas data dan homogenitas varians terpenuhi ($p > 0,05$). Jika dalam data asumsi normalitas terpenuhi namun asumsi homogenitas tidak terpenuhi, uji ANOVA welch akan dilakukan dengan post hoc Games-Howell. Apabila asumsi normalitas tidak terpenuhi, uji Kruskal–Wallis akan digunakan sebagai alternatif non-parametrik. Jika uji Kruskal–Wallis menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), perbandingan antar-kelompok akan dilanjutkan dengan uji Mann–Whitney.

Hasil

Efek pemberian Thymoquinone dan Madecassocide terhadap Gambaran histologi glomerulus dan sel tubulus ginjal mencit yang diinduksi oleh rotenone terlihat pada **Gambar 1** berikut



Gambar 1. Gambaran Histologis Diameter Glomerulus dan Nekrosis Tubulus (HE, 400x)

Keterangan:

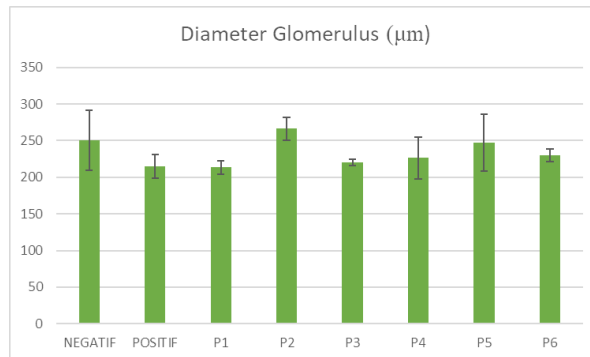
Gambaran histologi pada KN, KP, P1, P2, P3, dan P6 dengan perbesaran 400 kali. Sel tubulus normal ditunjukkan dengan panah berwarna hijau, sel tubulus nekrosis ditunjukkan dengan panah berwarna merah, dan glomerulus ditunjukkan oleh panah berwarna biru.

Hasil Pemberian Thymoquinone dan Madecassocide terhadap Histologi Glomerulus Mencit yang Diinduksi Rotenone

Efek pemberian thymoquinone dan madecassocide terhadap diameter glomerulus mencit yang diinduksi oleh rotenone dapat dilihat pada **Gambar 2** dan **Tabel 1** berikut:

Kelompok	n (sampe l)	Diameter glomerulus (Rata- rata $\pm$ SD)
Kontrol Negatif (KN)	3	250.16 $\pm$ 41.14
Kontrol Positif (KP)	3	214.90 $\pm$ 15.81
Perlakuan 1 (P1)	3	213.31 $\pm$ 9.00
Perlakuan 2	3	266.32 $\pm$ 15.43

(P2)		
Perlakuan 3	3	
(P3)		220.19 ± 4.60
Perlakuan 4	3	
(P4)		226.26 ± 28.73
Perlakuan 5	3	
(P5)		247.32 ± 38.63
Perlakuan 6	3	
(P6)		230.04 ± 8.17



Gambar 2. Histogram Diameter Glomerulus

Pada data menunjukkan distribusi tidak normal dan varian yang tidak homogen. Sehingga, analisis statistik dilakukan menggunakan uji ANOVA Welch yang diikuti oleh uji *post hoc* Games-Howell. Uji ANOVA Welch tidak menemukan perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok ($p=0,091$). Konsisten dengan temuan ini, uji *post hoc* Games-Howell juga mengindikasikan tidak adanya signifikansi pada perbandingan antar setiap kelompok perlakuan.

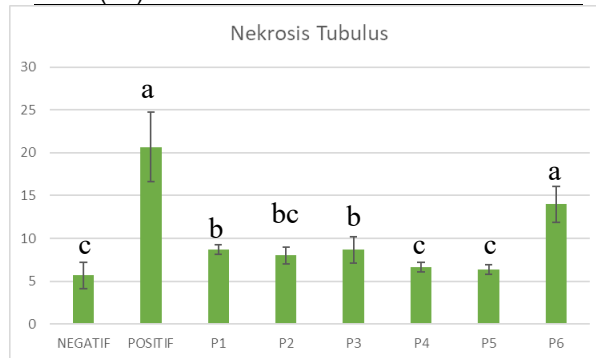
Hasil Pemberian Thymoquinone dan Madecassocide terhadap Histologi Sel Tubulus Mencit yang Diinduksi Rotenone

Efek pemberian thymoquinone dan madecassocide terhadap nekrosis sel tubulus mencit yang diinduksi oleh rotenone dapat dilihat pada **Gambar 3** dan **Tabel 2** berikut:

Tabel 2. Rerata Persentase Jumlah Nekrosis sel tubulus ginjal mencit

Kelompok	n (sampe l)	Sel Nekrosis (Rata- rata ± SD)
Kontrol Negatif (KN)	3	5.67 ± 1.53c
Kontrol Positif (KP)	3	20.67 ± 4.04a
Perlakuan 1 (P1)	3	8.67 ± 0.58b
Perlakuan 2 (P2)	3	8.00 ± 1.00bc

Perlakuan 3 (P3)	3	8.67 ± 1.53b
Perlakuan 4 (P3)	3	6.67 ± 0.58c
Perlakuan 5 (P3)	3	6.33 ± 0.58c
Perlakuan 6 (P3)	3	14.00 ± 2.10a



Gambar 3. Histogram Persentase Nekrosis

Keterangan:

a: Nekrosis tinggi, tidak menunjukan signifikansi

b: Nekrosis sedang, signifikan terhadap KP namun signifikan juga dengan KN

bc: Nekrosis sedang-rendah, tidak signifikan dengan P1 dan P3 namun juga tidak signifikan dengan KN

c: Nekrosis rendah, tidak signifikan dengan KN

Pada hasil Analisa statistik didapatkan KP dengan jumlah sel nekrosis tertinggi dan KN memiliki jumlah sel nekrosis terendah. Uji Kruskal Wallis menyatakan adanya perbedaan signifikan dan setelahnya dilakukan analisa post hoc yang menyatakan kontrol positif memiliki perbedaan signifikan dengan seluruh kelompok perlakuan kecuali pada P6 ($p=0,072$). Sementara itu, kontrol negatif didapatkan berbeda signifikan dengan P1 ($p=0,046$) dan P6 ($p=0,05$) dengan persentase pada P1 dan P6 lebih tinggi.

Pembahasan

Pengaruh Rotenone Terhadap Perubahan Diameter Glomerulus Dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal

Pemberian rotenone dengan dosis 2,5 mg/kg secara statistik menunjukan tidak adanya signifikansi. Sedangkan pada gambaran nekrosis sel tubulus proksimal, didapatkan bahwa pemberian rotenone 2,5 mg/kg dapat menyebabkan peningkatan sel nekrosis.

Sejalan dengan penelitian terdahulu yang menyatakan pemberian rotenone dengan dosis 2 mg/kg selama 10 hari dapat menyebabkan kerusakan pada gambaran histologis ginjal. Hal ini dikarenakan mekanisme kerja rotenone dengan mekanisme menghambat kompleks I pada rantai

transpor elektron mitokondria, yang dapat mengganggu transfer elektron dan nantinya mengurangi produksi ATP (Jiang et al., 2017).

Dengan mempertimbangkan kedua hasil tersebut, pertanyaan kemudian muncul mengenai perbedaan hasil yang diamati pada parameter diameter glomerulus dan nekrosis sel tubulus proksimal, Hal ini telah dibahas oleh Tavares *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa kerusakan pada tubulus dan glomerulus dapat terjadi secara independen. Selain itu, tubulus proksimal dinilai sebagai target utama dari kerusakan ginjal yang disebabkan oleh peningkatan stress oksidatif dikarenakan aktivitas transpor yang tinggi (Chevalier, 2016).

Pengaruh Pemberian Thymoquinone Terhadap Perubahan Diameter Glomerulus Dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal

Pemberian senyawa tunggal thymoquinone dengan dosis 15 mg/kg tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada diameter glomerulus. Sedangkan pada nekrosis sel tubulus proksimal didapatkan adanya penurunan persentase nekrosis pada sel tubulus proksimal. Namun, penurunan persentase nekrosis sel tubulus proksimal ini belum mencapai gambaran normal pada histologi sel tubulus ginjal dinilai dari perbandingannya dengan kelompok kontrol negatif yang menunjukkan adanya signifikansi.

Penurunan nekrosis sel tubulus ini, sejalan dengan Penelitian terdahulu oleh El-Sheikh *et al.*, (2015) menyatakan pemberian thymoquinone dengan dosis 10 mg/kg selama 10 hari dapat menunjukkan efek protektif pada methotrexate (El-Sheikh et al., 2015). Jika dihubungkan dengan mekanisme kerjanya, thymoquinone Seperti yang dijelaskan oleh Shaterzadeh-Yazdi et al. (2018), senyawa ini mendorong peningkatan fungsi enzim antioksidan, termasuk aktivasi SOD. Aspek penting lainnya adalah kemampuannya untuk menekan aktivasi jalur sinyal NF- κ B, yang merupakan pemicu utama ekspresi gen pro-inflamasi (Shaterzadeh-Yazdi et al., 2018).

Pengaruh Pemberian Madecassocide Terhadap Perubahan Diameter Glomerulus Dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal

Pada pemberian senyawa tunggal madecassocide 15 mg/kg tidak didapatkan adanya signifikansi pada parameter diameter glomerulus. Sedangkan pada parameter nekrosis tubulus didapatkan dapat menurunkan persentase nekrosis hingga mencapai gambaran kondisi normal histologi sel tubulus proksimal.

Mengingat mekanisme kerja madecassocide yang terbukti dapat menekan stress oksidatif pada ginjal melalui berbagai mekanisme seperti penghambatan aktivitas p38 kinase dan ERK, serta menurunkan aktivasi jalur NF- κ B. Selain itu, senyawa ini juga berkontribusi dalam meningkatkan sintesis enzim-enzim antioksidan (Maghamifar et al., 2021).

Pengaruh Pemberian Senyawa Kombinasi Thymoquinone dan Madecassocide Terhadap Perubahan Diameter Glomerulus Dan Nekrosis Sel Tubulus Proksimal

Pada hasil pemberian senyawa kombinasi didapatkan bahwa seluruh kelompok perlakuan kombinasi tidak menunjukkan adanya signifikansi pada parameter diameter glomerulus. Sebaliknya, pada parameter nekrosis sel tubulus ditemukan adanya penurunan persentase nekrosis sel tubulus.

Namun, pada pemberian thymoquinone dosis rendah (7,5 mg/kg) dan madecassoside (15 mg/kg), ditemukan tidak mencapai kondisi normal gambaran histologi sel tubulus proksimal. Sedangkan pada kelompok perlakuan kombinasi dosis thymoquinone 10 mg/kg dan 15 mg/kg dengan madecassoside 15 mg/kg ditemukan memiliki angka persentase nekrosis terendah.

Temuan ini mengindikasikan bahwa kelompok perlakuan kombinasi, dapat memberikan perlindungan ginjal yang mendekati atau mencapai kondisi gambaran histologi normal. Sebagai studi awal yang mengeksplorasi kombinasi thymoquinone dan madecassoside dalam model kerusakan ginjal yang diinduksi rotenone, hasil ini menyoroti bahwa efektivitas penuh terapi kombinasi sangat bergantung pada optimasi serta rasio dosis senyawa khususnya thymoquinone, untuk mencapai efek sinergis maksimal.

Sementara pada P6 ditemukan tidak ada signifikansi terhadap kelompok kontrol positif hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan dengan induksi pramipexole dengan dosis 1 mg/kg tidak cukup untuk menurunkan nekrosis pada tubulus. Dampak pramipexole pada ginjal cenderung tidak terlalu jelas karena obat ini adalah agonis dopamin yang utamanya menargetkan sistem saraf. Meskipun demikian, pramipexole dapat memberikan perlindungan terhadap stres oksidatif pada ginjal melalui aktivasi reseptor dopamin D2, yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan redoks di organ tersebut. Namun, karena fokus utamanya pada sistem saraf, efeknya pada ginjal mungkin tidak begitu menonjol (Cuevas et al., 2013). Temuan ini berkontribusi pada pemahaman baru mengenai dampak pramipexole dosis 1 mg/kg pada ginjal mencit yang terpapar rotenone.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini didapatkan bahwa pemberian rotenone dosis 2,5 mg tidak menyebabkan perubahan signifikan pada diameter glomerulus mencit, namun dapat menyebabkan peningkatan persentase nekrosis pada sel tubulus proksimal. Pada pemberian thymoquinone dosis 15 mg/kg berhasil menurunkan persentase nekrosis pada tubulus proksimal mencit yang diinduksi rotenone 2,5 mg/kg, meskipun efek penurunannya belum cukup untuk mengembalikan gambaran histologi tubulus proksimal sepenuhnya ke gambaran kondisi normal.

Pada sisi lain, pemberian madecassoside dosis 15 mg/kg menunjukkan mampu menurunkan persentase nekrosis pada tubulus proksimal mencit yang diinduksi rotenone. Secara umum, kombinasi pemberian thymoquinone dan madecassoside juga terbukti efektif dalam menurunkan persentase nekrosis pada tubulus proksimal mencit yang diinduksi rotenone 2,5 mg/kg namun, pada pemberian thymoquinone dosis rendah dan madecassoside menunjukkan

penurunannya belum cukup untuk mengembalikan ke gambaran kondisi normal histologi tubulus proksimal.

Berbeda dengan senyawa-senyawa tersebut, pemberian pramipexole dosis 1 mg/kg tidak menunjukkan kemampuan untuk menurunkan persentase nekrosis sel tubulus proksimal mencit yang diinduksi rotenone dengan dosis 2,5 mg/kg.

Untuk memberikan pengaruh yang lebih komprehensif mengenai efek nefroprotektif, penelitian selanjutnya disarankan untuk menilai kadar biomarker fungsional ginjal, seperti kreatinin serum, BUN, atau penanda kerusakan tubulus atau glomerulus lainnya, sebagai tambahan dari pengukuran diameter glomerulus.

Selain itu, penting untuk melakukan penelitian serupa dengan jumlah sampel yang lebih besar. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan kekuatan statistik. Terakhir, disarankan untuk melakukan analisis histopatologi yang lebih mendalam, termasuk penilaian tingkat inflamasi, fibrosis, atau apoptosis, guna mendapatkan gambaran yang lebih rinci terkait mekanisme perlindungan dan kerusakan yang terjadi pada ginjal.

UCAPAN TERIMA KASIH (Jika diperlukan)

Penulis berterimakasih kepada FK UNISMA serta Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang atas bantuan dan pembiayaan yang telah diberikan dalam mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

Jurnal Ilmiah

- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S. A., Najmi, A. K., Siddique, N. A., Damanhour, Z. A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 337–352. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1)
- Bandopadhyay, S., Mandal, S., Ghorai, M., Jha, N. K., Kumar, M., Radha, Ghosh, A., Proćkó, J., Pérez de la Lastra, J. M., & Dey, A. (2023). Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: A review. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 27(5), 593–608. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17635>
- Betarbet, R., & Greenamyre, J. T. (2008). Complex I inhibition, rotenone and Parkinson's disease. In R. Nass & S. Przedborski (Eds.), *Parkinson's disease* (pp. 195–206). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374028-1.00014-2>

Chevalier R. L. (2016). The proximal tubule is the primary target of injury and

progression of kidney disease: role of the glomerulotubular junction. *American journal of physiology. Renal physiology*, 311(1), F145–F161. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00164.2016>

- Cuevas, S., Villar, V. A., Jose, P. A., & Armando, I. (2013). Renal dopamine receptors, oxidative stress, and hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 17553–17572. <https://doi.org/10.3390/ijms140917553>
- Dera, A. A., Rajagopalan, P., Alfihili, M. A., Ahmed, I., & Chandramoorthy, H. C. (2020). Thymoquinone attenuates oxidative stress of kidney mitochondria and exerts nephroprotective effects in oxonic acid-induced hyperuricemia rats. *BioFactors*, 46(2), 292–300. <https://doi.org/10.1002/biof.1590>
- El-Sheikh, A. A. K., Morsy, M. A., Abdalla, A. M., Hamouda, A. H., & Alhaider, I. A. (2015). Mechanisms of thymoquinone hepatorenal protection in methotrexate-induced toxicity in rats. *Mediators of Inflammation*, 2015, Article ID 859383. <https://doi.org/10.1155/2015/859383>
- Haraguchi, R., Kohara, Y., Matsubayashi, K., Kitazawa, R., & Kitazawa, S. (2020). New insights into the pathogenesis of diabetic nephropathy: Proximal renal tubules are primary target of oxidative stress in diabetic kidney. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 53(2), 21–31. <https://doi.org/10.1267/ahc.20008>
- Hermawan, I. P. (2016). Pengaruh pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* Linn) terhadap nekrosis glomerulus dan tubulus ginjal mencit jantan (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok [Undergraduate thesis, Universitas Airlangga]. *Universitas Airlangga Repository*. <https://repository.unair.ac.id/54482/>
- Jiang, X. W., Qiao, L., Feng, X. X., Liu, L., Wei, Q. W., Wang, X. W., & Yu, W. H. (2017). Rotenone induces nephrotoxicity in rats: Oxidative damage and apoptosis. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(7), 528–536. <https://doi.org/10.1080/15376516.2017.1333553>
- Maduro, P. N. N. I., Brandão, A. R. J., & Israel, K. C. P. (2020). Acute nephrotoxicity and neurotoxicity associated with concentrated star fruit juice consumption. *BMJ Case Reports*, 13(12), e234460. <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-234460>
- Maghamifar, A., Najafzadehvarzi, H., & Hossaini, S. (2021). Effect of co-administration rotenone and crocin on biochemical and histopathological changes in rat's kidney. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 11(1), 108–112. <https://doi.org/10.5530/ijpi.2021.1.20>

- Shaterzadeh-Yazdi, H., Noorbakhsh, M.-F., Samarghandian, S., & Farkhondeh, T. (2018). An overview on renoprotective effects of thymoquinone. *Kidney Diseases*, 4(2), 74–82. <https://doi.org/10.1159/000486829>
- Tavares, M. B., Almeida, M. D. C. C. De, Martins, R. T. C., De Sousa, A. C. G. P., Martinelli, R., & Dos-Santos, W. L. C. (2012). Acute tubular necrosis and renal failure in patients with glomerular disease. *Renal Failure*, 34(10), 1252–1257. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2012.723582>