

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Garcinia mangostana* L.

2.1.1 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Sub Kingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Super Divisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Theales
Keluarga : Clusiaceae
Genus : *Garcinia*
Spesies : *Garcinia mangostana* L.

(Diakses <http://www.plantamor.com/index.php?plant=610>. pada tanggal 31 Agustus 2015)

2.1.2 Sinonim

Guttiferae : Clusiaceae

2.1.3 Nama Lokal

Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), Manggus (Lampung), Manggusto (Sulawesi Utara), Manggista (Sumatera Barat) (Kemenristek, 2006).

2.1.4 Deskripsi Tanaman

Habitus pohon. Batangnya berkayu, bulat, tegak, percabangan simpodial, berwarna hijau kotor. Daun berbentuk tunggal, lonjong, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 20-25 cm, lebar 6-9 cm, tebal, tangkai silindris, berwarna hijau. Bunga cirinya tunggal, berkelamin dua, tumbuh di ketiak daun, tangkai silindris, panjang 1-2 cm, benang sari berwarna kuning, memiliki satu putik berwarna putih. Buah berbentuk bulat, diameter 6-8 cm, warna coklat keunguan. Biji berbentuk bulat, diameter kurang lebih 2 cm, dalam satu buah terdapat 5-7 biji, berwarna kuning. Akar tunggang, berwarna putih kecoklatan (Depkes RI, 1994).



Gambar 2.1 Kulit Buah Manggis

2.1.5 Tempat Tumbuh Dan Penyebaran

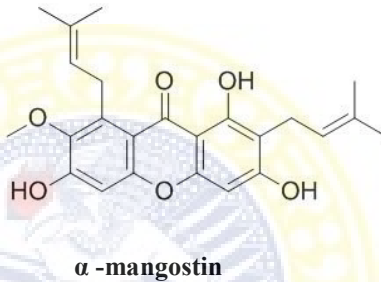
Tanah yang paling baik untuk budidaya manggis adalah tanah yang subur dan mengandung bahan organik. Derajat keasaman tanah (pH tanah) ideal untuk budidaya manggis adalah 5-7. Untuk pertumbuhan tanaman manggis memerlukan daerah dengan drainase baik dan tidak tergenang serta air tanah berada

pada kedalaman 50–200 m. Pohon manggis dapat tumbuh di daerah dataran rendah sampai di ketinggian di bawah 1.000 m dpl. Pertumbuhan terbaik dicapai pada daerah dengan ketinggian di bawah 500-600 m dpl. Dalam budidaya manggis, angin berperan dalam penyerbukan bunga untuk tumbuhnya buah. Angin yang baik tidak terlalu kencang. Daerah yang cocok untuk budidaya manggis adalah daerah yang memiliki curah hujan tahunan 1.500–2.500 mm/tahun dan merata sepanjang tahun. Temperatur udara yang ideal berada pada kisaran 22-32 derajat C (Kemenristek, 2006).

2.1.6. Kandungan Tanaman

Kulit buah manggis mengandung xanthon : α -Mangostin, β -Mangostin, γ -Mangostin, Mangostanol, Mangostenol, 1-Isomangostin, 1-Isomangostin hydrate, 3-Isomangostin, 3-Isomangostin hydrate, 1,6-Dihydroxy-7-methoxy-8-isoprenyl-6,6-dimethylpyrano(2,3:3,2)xanthone, Toxyloxanthone A (trapezifolixanthone), Calabaxanthone, Demethylcalabaxanthone, Caloxanthone A, Macluraxanthone, 1,7-dihydroxyxanthone, Euxanthone, Cudraxanthone, 8-hydroxycudraxanthone G, Esmeatxanthone A, BR-xanthone A-B, Mangostanin, Mangostenone A-B, Mangostinone, Gartanin, 8-Deoxygartanin, Garcinone A-E, Garcimangosone A-D, Tovophyllin A-B, 1,5-dihydroxy-2-isoprenyl-3-methoxyxanthone, Mangostingone [7-methoxy-2-(3-isoprenyl)-8-(3-methyl-2-oxo-3-buthenyl)-1,3,6-trihydroxyxanthone, 5,9-Dihydroxy-2,2-dimethyl-8-methoxy-7-isoprenyl-2H,6H-pyrano [3,2-b] xanthen-6-one, 2-(γ , γ - Dimethylallyl)-1,7-dihydroxy-3-methoxyxanthone, 2,8-Bis(γ , γ -

dimethylallyl)-1,3,7-trihydroxyxanthone, 1,3,7-Trihydroxy-2,8-di-(3-methylbut-2-enyl) xanthone, 1,7-Dihydroxy-2-isoprenyl-3-methoxyxanthone, 2,7-Diisoprenyl-1,3,8-trihydroxy 4-methylxanthone, 2,8-Diisoprenyl-7-carboxy-1,3-dihydroxyxanthone, 2-Isoprenyl-1,7-dihydroxy-3-methoxyxanthone, dan 1,3,6,7-Tetrahydroxy-8-(3 methyl-2-buthenyl)-9H-xanthon-9-one. (Joze Pedraza-Chaverri *et al*, 2008).



Gambar 2.2. **Struktur kimia inti xanton dan turunan dari mangostin yaitu α -mangostin.**

2.1.7. Manfaat Tanaman

Manfaat dari tanaman manggis sangat beragam. Buah manggis dapat disajikan dalam bentuk segar, sebagai buah kaleng, ataupun dibuat sari buah. Buah manggis muda dapat digunakan sebagai antikanker dan memiliki efek speriniostatik dan spermisida (Bewiska, 2009). Secara tradisional buah manggis digunakan sebagai obat sariawan, wasir, luka, diare, radang, amandel, keputihan, disentri, dan borok. Selain itu juga dipakai sebagai peluruh dahak dan sakit gigi (Bewiska, 2009)

Khusus di Indonesia sendiri, manggis secara tradisional digunakan untuk mengobati diare (daging atau kulit buahnya), radang tenggorokan, disentri, wasir, tukak, sering meludah,

keputihan (daging buahnya), sembelit (damarnya), tidak teratur datang bulan (akarnya) (Mardiswojo dan Rajakmangunsudarso, 1985).

Kulit buah manggis yang mengandung senyawa xanthone yang bersifat sebagai antidiabetes telah dibuktikan oleh seorang peneliti di Jepang, yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus percobaan dengan kasus diabetes mellitus tipe II. Xanthone dapat menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan sel β pankreas akibat radikal bebas. Xanthone kulit manggis juga telah dibuktikan dengan menggunakan fraksi air kulit manggis dan telah diketahui memiliki aktivitas antidiabetes (Pasaribu *et al.*, 2012). Kulit batang digunakan untuk mengatasi nyeri perut dan akar untuk mengatasi haid yang tidak teratur (Bewiska, 2009).

2.2 Tinjauan tentang *Orthosiphon stamineus* Benth.

2.2.1 Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Sub Kingdom : Tracheobionta
Divisi : Magnoliophyta
Super Divisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Lamiales
Familia : Lamiaceae
Genus : *Orthosiphon*
Spesies : *Orthosiphon stamineus* Benth.

(Diakses <http://www.plantamor.com/index.php?plant=925>. pada tanggal 31 Agustus 2015..

2.2.2 Sinonim

Orthosiphon aristatus (B1.) Miq., *Orthosiphon grandiflorus* Bid.,
Orthosiphon spicatus B. B. S (Kemenristek, 2006).

2.2.3 Nama Lokal

Jawa : Kumis ucing (Sunda), remuk *jung* (Jawa) ; Sumatera :
Kumis kucing (Melayu) ; Madura : Sengkot koceng, sesalaseyam ;
Indonesia : Kumis kucing; Inggris : Java tea, cats whiskers;
Thailand : Yaa nuat maeo; Philipina : Kabling gubat; Cina : Mao
xu cao (Dalimartha, 2000).

2.2.4 Deskripsi Tanaman

Habitus berada di dataran rendah pada ketinggian \pm 700 mdpl.
Batang cirinya berkayu, segi empat agak beralur, beruas,
bercabang, berambut pendek atau gundul, berakar kuat. Daunnya
berbentuk tunggal, bulat telur, elips atau memanjang, berambut
halus tepi bergerigi, ujung dan pangkal runcing, tipis, panjang 2-10
cm, lebar 1-5 cm, warna hijau. Bunga cirinya majemuk dalam
tandan yang keluar dari ujung percabangan, berwarna ungu pucat
atau putih, benang sari lebih panjang dari tabung bunga. Buah
berbuah kotak, bulat telur, masih muda berwarna hijau, setelah tua
berwarna coklat. Biji berbentuk kecil, masih muda berwarna hijau,
setelah tua berwarna hitam. (Dalimartha, 2000).



Gambar 2.3 Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*. Benth).

2.2.5 Tempat Tumbuh Dan Penyebaran

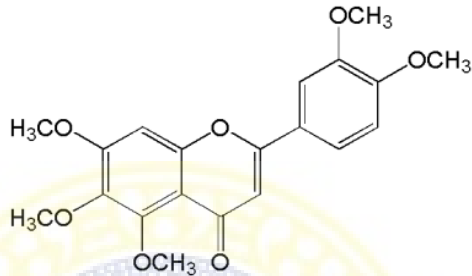
Tanaman kumis kucing dapat ditemukan pada daerah yang teduh, tidak terlalu kering; 1-700 m di Jawa dan pulau-pulau lainnya di nusantara, tumbuh menjulang sepanjang anak air dan selokan karena daunnya berkhasiat untuk pengobatan, sering dibiarkan tumbuh di halaman (Dalimartha, 2000). Penyebaran tanaman kumis kucing meliputi India, Malaysia, China, Australia (Ameer, *et al.*, 2012).

2.2.6 Kandungan Tanaman

Daun kumis kucing mengandung Sinensetin, Eupatorin, 3'-Hydroxy-5,6,7,4'-tetramethoxyflavone, Tetramethylscutellarein, Salvegenin, Ladanein, Vomifoliolm pillion, 7,3',4'-Tri-O-methyluteolin, Scutellarein tetramethylether (5,6,7,4'-tetramethoxyflavone), 5-Hydroxyl-6,7,3',4'-

tetramethoxyflavone, 6-Hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavone, 5,6-Dihydroxy-7,4'-dimethoxyflavone, Caffeic acid, Rosmarinic acid, Cichoric acid, 2,3-Dicaffeoyltartaric acid, Aurantiamide acetate, Orthosiphonol A-Z, 6-Hydroxyorthosiphonol B, 7-O-deacetylorthosiphonol B, 3-O-Deacetylorthosiphonol I, 2-O-Deacetylorthosiphonol J, 14-Deoxy-14-O-acetylorthosiphonol Y, Orthosiphonone A-D, 2-O-Deacetylorthosiphonone A, Methylripariochromene A, Staminol A-D, Staminolactone A,-B, Secoorthosiphonol A-C, Nororthosiphonolide A, Norstaminolactone A, Norstaminol A-C, Norstaminone A, Neoorthosiphonone A, Neoorthosiphonol A-B, Siphonol A-E, Orthochromene A, Ursolic acid, Oleanolic acid, betulinic acid, Hydroxybetulinic acid, Maslinic acid, a-amyrin, b-amyrin, oleanolic acid, Hexanal, Trans-2-hexanal, 1-octen-3-ol, 3-octanol, Heptenal, 4-heptenal, trans,trans-deca-2,4-dienal, b-cyclocitral, safranal, cis-2-octenal, decanal, cis-3-Hexen-1-ol, Hexan-1-ol, trans -2-(cis)-6-Nonadienale, Benzaldehyde, phenylacetaldehyde, 2-pentenyl furan, 2-amylfuran, perillen, Acetophenone, cis-linalool oxide, 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexe-1,4-dione, trans,trans-Octa-3,5-dien-2-one, trans,cis-octa-3,5-dien-2-one, Undecan, tridecane, 2-methylnaphthalene, dodecane, Camphor, menthone, d-terpineol, isomenthone, borneol, cittonellol, carvone, geranyl acetone, damascenone, trans-linalool oxide, linalool, bornyl acetate, limonene, 1,8-cineol, p-cymene, b-pinene, camphene, a-pinene, Methylchavicol, Naphthalene, trans-Anethol, Isobornylacetate, 1-Methylnaphthalene, a-copaene, b-Bourbonene, b-elemene, cis-caryophyllene, b-caryophyllene, a-cubebene, c-elemene, a-humulene, germacrene D, a-Muuiolene, d-Cadinene, Germacrene

B, caryophyllene oxide, hexahydrofamesyl acetone, Eugenol, methyleugenol, b-Ionone, dehydroionone, b-Sitosterol. (Ameer *et al*, 2012).



Gambar 2.4 Struktur Molekul Sinensetin (3',4',5,6,7-pentametoksiflavin)

2.2.7 Kegunaan Tanaman

Secara empiris dikenal untuk pengobatan diabetes, hipertensi, tonsilitis, epilepsi, gangguan menstruasi, gonorrhoe, sifilis, renanl calculus, gallstone, lithiasis, edema, demam, influenza, hepatitis dna penyakit kuning. Dikenal pula sebagai diuretik dari alam yang paling poten (Ameer *et al*, 2012).

Dari hasil studi farmakologi, kumis kucing mempunyai efek diuretik, hipouricemia, renal protektif, antioksidan, antiinflamasi, hepatoprotektif, gastroprotektif, antihipertensi, antidiabetes, antihiperlipidemia, dan antimikroba (Ameer *et al*, 2012).

2.3 Tinjauan Tentang Ekstrak

2.3.1. Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengejstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hamper semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

2.3.2. Proses Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak yang baik harus melewati beberapa tahapan proses, yaitu :

1. Pembuatan serbuk simplisia
2. Pemilihan cairan pelarut
3. Separasi dan pemurnian
4. Pemekatan/penguapan
5. Pengeringan ekstrak
6. Rendemen

(Depkes RI, 2000).

2.3.3. Ekstraksi Dengan Cara Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus).

Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

2.3.4. Pemekatan / Penguapan (Vaporasi dan Evaporasi)

Pemekatan berarti jumlah partial solute (senyawa terlarut) secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering, ekstrak hanya menjadi kental / pekat (Depkes RI, 2000).

2.3.5. Ekstrak kering

Ekstrak kering adalah sediaan yang diperoleh dengan cara pemekatan dan pengeringan ekstrak cair sampai mencapai konsentrasi yang diinginkan menurut cara-cara yang memenuhi syarat dan ketentuan. Pengaturan biasanya dilakukan berdasarkan kandungan bahan aktif dengan cara penambahan bahan inert. Ekstrak kering biasanya sangat higroskopis. Oleh sebab itu, harus digerus dan dicampur di bawah kondisi kelembaban udara seminimal mungkin. Produk antara dan produk akhir harus disimpan dalam keadaan kering. Jadi, harus diperhatikan pengemasan serta penyimpanannya (Mundari, 2013). Pada penelitian ini tanaman kering kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) dan manggis (*Garcinia mangostana* Linn) dicuci kemudian dikeringkan dan dilakukan penyerbukan. Serbuk kemudian dimaserasi dengan etanol 70% teknis. Maserat yang telah jadi diuapkan menggunakan rotavapor dan didapat ekstrak kental. Dari ekstrak kental tersebut dikeringkan dengan menambahkan

bahan pengering yaitu mikrosel dan *corn starch* dengan perbandingan 1:1.

2.4. Tinjauan tentang Hewan Coba

Hewan percobaan adalah hewan yang sering digunakan untuk sebuah penelitian biologis serta biomedis sebagai syarat dan standar untuk melakukan sebuah penelitian. Penggunaan pada hewan coba dalam penelitian harus memperhatikan kesehatan dan kecocokan hewan coba yang akan digunakan pada penelitian. Hewan tersebut harus berada dalam lingkungan yang sesuai serta dalam pengawasan dan kontrol yang ketat. Tujuannya adalah untuk mendapatkan *defined laboratory animals* sehingga sifat genotipe, fenotipe (efek maternal), dan sifat dramatipe (efek lingkungan terhadap fenotipe) menjadi konstan. Hal tersebut perlu dilakukan supaya memberikan hasil yang sama pada penelitian berikutnya.

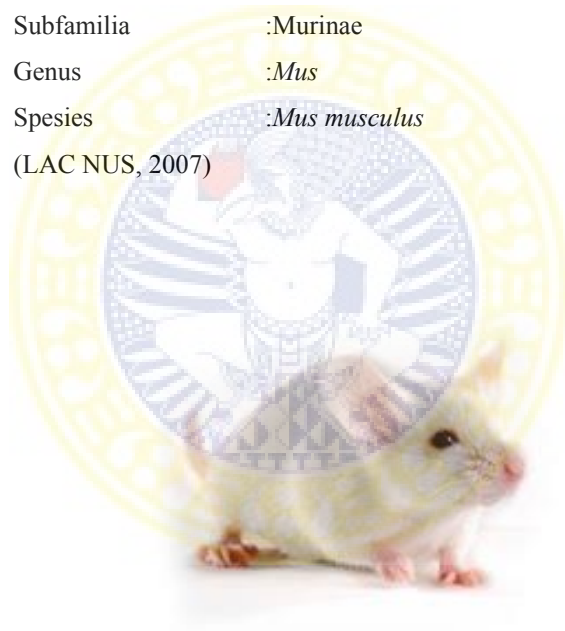
Tikus, kelinci, mencit dan hamster biasa dipakai sebagai hewan coba. Hewan-hewan ini mudah diperoleh, penanganannya mudah, jumlah anaknya cukup besar dan masa kehamilannya pendek. Pada penelitian tentang uji aktivitas campuran ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) dan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) ini menggunakan hewan coba mencit karena perawatannya mudah dan lebih ekonomis. Selain itu mencit digunakan tidak hanya karena pengalaman sebelumnya dengan spesies-spesies jenis ini, tetapi jumlahnya dapat dibuat cukup besar dan memenuhi persyaratan statistik. Penggunaan primata bukan manusia juga dianjurkan karena hubungan filogeniknya dekat dengan manusia. Hewan coba yang digunakan harus memenuhi persyaratan, yaitu: harus muda, dewasa dan sehat (Loomis, 1978; Lu, 1995).

2.5 Hewan Uji

2.5.1 Taksonomi Mencit

Kingdom	:Animalia
Filum	:Chordata
Kelas	:Mamalia
Ordo	:Rodentia
Familia	:Muridae
Subfamilia	:Murinae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

(LAC NUS, 2007)



Gambar 2.5 Mencit (*Mus musculus* L.)

2.5.2 Tinjauan mencit

Mencit adalah hewan pengerat (Rodentia) yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik. Mencit

(Mus musculus) hidup dalam daerah yang cukup luas. Penyebarannya mulai dari iklim dingin, sedang maupun panas. Mencit paling banyak digunakan di laboratorium untuk berbagai penelitian (Mallol, M., 1989). Ukuran tubuh mencit sangat kecil, selain itu mencit mempunyai kecenderungan tidur dan istirahat di ujung kandang yang gelap. Sifat anatomis mencit antara lain : susunan gigi : seri 1/1, tidak ada taring, tidak ada premolar, gerahamnya 3/3. Terdapat 2 pasang mammae di bagian dada dan 2 pasang mammae di daerah inguinal.

2.5.3. Pemberian Bahan Uji

Pemberian bahan uji pada hewan coba harus di upayakan sebaik mungkin agar tidak menimbulkan stres atau nyeri pada hewan. Ada beberapa cara pemberian bahan uji pada hewan coba, yaitu (Kusumawati, 2004) :

1. Suntikan intraperitonium
2. Suntikan subkutan dan intramuskular
3. Suntikan intradermal
4. Pemberian peroral, dengan volume maksimal 10 ml/kg (Jones, 2012)
5. Suntikan intravena

2.6 Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila

terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM, 2014).

Uji toksisitas menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan/sediaan pada manusia, namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas relatif dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (BPOM, 2014).

Faktor-faktor yang menentukan hasil uji toksisitas secara *in vivo* dapat dipercaya adalah: pemilihan spesies hewan uji, galur dan jumlah hewan; cara pemberian sediaan uji; pemilihan dosis uji; efek samping sediaan uji; teknik dan prosedur pengujian termasuk cara penanganan hewan selama percobaan (BPOM, 2014).

Uji toksisitas meliputi uji toksisitas akut oral, toksisitas subkronis oral, toksisitas kronis oral, teratogenisitas, sensitisasi kulit, iritasi mata, iritasi akut dermal, iritasi mukosa vagina, toksisitas akut dermal, dan toksisitas subkronis dermal. Pemilihan uji tersebut, tergantung dari tujuan penggunaan suatu zat dan kemungkinan terjadinya risiko akibat pemaparan pada manusia. (BPOM, 2014).

2.6.1. Uji Toksisitas Akut Oral

Uji toksisitas akut oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam (BPOM, 2014).

Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis perkelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas (BPOM, 2014).

Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsic suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD50 suatu bahan/sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/sediaan dan pelabelan (BPOM, 2014).

2.6.2. Uji Toksisitas Subkronik

Uji toksisitas subkronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang yang diberikan secara oral pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan (BPOM, 2014).

Prinsip dari uji toksisitas subkronis oral adalah sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan setiap hari pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok selama 28 atau 90 hari. Selama waktu pemberian sediaan uji, hewan harus diamati setiap hari untuk menentukan adanya toksisitas. Pada akhir periode

pemberian sediaan uji, semua hewan yang masih hidup diotopsi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makropatologi pada setiap organ dan jaringan. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hematologi, biokimia klinis dan histopatologi. (BPOM, 2014).

Tujuan uji toksisitas subkronis oral adalah untuk memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut; informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu. informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*); dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut. (BPOM, 2014).

Uji toksisitas subakut dilakukan dengan memberikan bahan tersebut berulang-ulang, biasanya setiap hari atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan, yaitu 3 bulan untuk tikus dan satu atau dua tahun untuk anjing. Meskipun demikian, beberapa peneliti menggunakan jangka waktu yang lebih pendek, yaitu pemberian zat selama 14 dan 28 hari. Tujuan dari studi toksisitas subakut adalah menentukan sifat dan tempat efek toksik serta mengetahui apakah efek tersebut berhubungan dengan dosis (Lu, 1995).

Manifestasi beracun seperti berat badan, kematian, makanan dan asupan air dipantau. Setelah 28 hari, semua hewan yang masih hidup dipuasakan semalam. Pada akhir percobaan, darah dikumpulkan dari sinus orbital dengan anestesi ether untuk analisis biokimia. Organ yang dipilih

hati, jantung, limpa otak, ginjal dan paru-paru telah dihapus untuk analisis makroskopik (Badarunisha dkk., 2014).

Berdasarkan Lu (1995) pengamatan yang perlu dilakukan pada toksisitas subakut meliputi:

1. Berat Badan dan Konsumsi Makanan

Kedua hal tersebut harus diukur setiap minggu. Berkurangnya penambahan berat badan merupakan indeks efek toksik yang sederhana namun sensitif. Konsumsi makanan merupakan indikator yang berguna sebab bila konsumsi makanan berkurang dapat menimbulkan efek yang mirip atau memperberat manifestasi toksik zat kimia.

2. Pengamatan Umum

Yang harus diamati adalah penampilan, perilaku, dan semua abnormalitas. Hewan yang mati atau sakit harus dipisah dari kandang untuk diperiksa secara umum dan kalau mungkin secara mikroskopi.

3. Uji Laboratorium

Pemeriksaan hemtologik biasanya mencakup hematokrit, hemoglobin, hitung eritrosit, hitung leukosit total dan hitung jenis leukosit. Uji laboratorium klinik, biasanya mencakup glukosa darah puasa, SGOT, SGPT, alkali fosfatase, protein total, albumin, globulin, BUN, dan unsur-unsur seperti Natrium, Kalium, Kalsium, dan Klorit. Sedangkan urinalis mencakup warna, berat jenis, protein, glukosa, keton, unsur berbentuk Kristal dan benda amorf.

2.6.3. Uji Toksisitas Kronis Oral

Uji toksisitas kronis oral adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan. Uji toksisitas kronis pada prinsipnya sama dengan uji toksisitas subkronis, tetapi sediaan uji diberikan selama tidak kurang dari 12 bulan (BPOM, 2014).

Tujuan dari uji toksisitas kronis oral adalah untuk mengetahui profil efek toksik setelah pemberian sediaan uji secara berulang selama waktu yang panjang, untuk menetapkan tingkat dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (NOAEL) (BPOM, 2014).

2.6.4. Uji Toksisitas Khusus

Uji toksisitas khusus meliputi karsinogenesis, metagenesis, teratogenesis, patensiasi, imunotoksikologi, toksisitas terhadap system reproduksi, kulit, mata dan tingkah laku. Kesulitan yang seiring timbul pada uji toksisitas khusus adalah lama pengamatan yang harus dilakukan serta hewan coba yang biasanya tidak hanya terdiri dari satu jenis saja (Lu, 1995).

2.7 Tinjauan Organ Hati

2.7.1 Anatomi dan Fisiologi Hati

Hati merupakan organ terbesar pada tubuh, memberikan kontribusi sekitar 2% dari berat tubuh atau sekitar 1,5 kg pada rerata manusia dewasa. Fungsi dasar hati terkait dengan lobulus hati yang mana memiliki struktur

silindris dengan panjang beberapa millimeter dan 0,8-2 mm untuk diameternya. Hati individu terdiri dari 50.000-100.000 lobulus (Guyton dan Hall, 2006). Hati memiliki 2 lobulus utama yaitu lobules kanan yang dibagi menjadi segmen arteriol dan posteriol oleh fisura segmentalis dan lobilis kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligamentum falsiformis (Wilson dan Lester, 1995).

Lobulus hati terbentuk mengelilingi vena sentral yang bermuara pada vena hepatica kemudian masuk vena cava. Lobulus dibentuk dari sejumlah lempeng sel hati yang memancar dari vena sentralis seperti seperti jeruji roda. Setiap lempeng hati tebalnya 2 sel dan diantara sel yang berdekatan terdapat kanalikuli biliaris kecil yang mengalir kedalam duktus biliaris pada septum fibrosa memisahkan lobules hati yang berdekatan (Guyton dan Hall, 2006).

Pada septum terdapat venula porta kecil yang menerima darah dari vena saluran pencernaan melalui vena porta. Dari venula, darah dialirkan kedalam sinusoid hati yang gepeng dan bercabang diantara lempeng hati menuju vena sentralis. Demikian, sel hati terpapar secara terus-menerus dengan darah vena porta (Guyton dan Hall, 2006).

Terdapat arteriol hati pada septum intralobular. Arteriol ini mensuplai darah arteri ke jaringan septum diantara lobules yang terpisah, dan sejumlah kecil arteriol juga mengalir langsung kedalam sinusoid hati, paling sering sepertiga jarak dari septum interlobularis. Sinusoid vena dibatasi oleh 2 sel, yaitu sel endotel dan sel Kuffer (retrikuloendotel), yang merupakan makrofag jaringan yang

mampu menjaga fagositosis bakteri dan benda asing lain dalam darah sinus hati. Lapisan endotel sinusoid vena mempunyai pori yang besar dengan diameter sekitar 1 mikrometer. Dibawah lapisan ini terletak ruang sempit kosong diantara sel endotel dan sel hati, yaitu ruang Disse. Jutaan ruang Disse menghubungkan saluran limfa kedalam septum interlobularis. Kelebihan cairan dalam ruangan ini dikeluarkan menuju aliran limfatik (Guyton dan Hall, 2006).

2.7.2 Fungsi Hati

Fungsi metabolisme energi dan interkonversi substrat. Meliputi metabolisme glukosa, protein, dan lemak. Pada fungsi sekresi dan sintesis protein plasma. Beberapa protein dalam plasma yang disintesis oleh hepar adalah albumin (regulator tekanan osmotik), antitrombin III (inhibitor sistem koagulasi intrinsik), fibrinogen (prekursor fibrin dalam hemostasis), transferin (berperan dalam transport zat besi), angiotensinogen, apolipoprotein B, faktor pembekuan darah (faktor II, VII, IX, X), insulin like growth factor I, dan steroid hormone-binding globulin, yaitu suatu protein karier untuk steroid dalam peredaran darah. Pada fungsi solubilisasi, transport, dan penyimpanan dari hepar. Berperan dalam sirkulasi enterohepatik dari empedu, metabolisme dan ekskresi obat, biotransformasi, berperan dalam solubilisasi apolipoprotein dan transport lipid, serta mensintesis protein pengikat. Sedangkan pada fungsi

protektif dan klirens. Terdapat empat macam fungsi klirens dan protektif yang dilakukan oleh hati, yaitu: fungsi fagositosis dan endositosis dari sel kupffer, fungsi endositik dari hepatosit, metabolisme ammonia, sintesis glutation sebagai reagen intraseluler pereduksi utama yang penting dalam mencegah kerusakan oksidatif pada protein seluler oleh hepatosit (McPhee *et al*, 2005).

2.7.3 Tes Gangguan Fungsi Hati

Untuk mengetahui gangguan fungsi organ tubuh ditentukan melalui tes laboratorium dan diagnose dengan pemeriksaan jaringan. Menurut Price dan Wilson (2005), Tes laboratorium untuk mengetahui gangguan fungsi hati adalah :

1. Diagnosis terhadap hasil ekskresi dan sekresi dari hati

Dilakukan dengan pemeriksaan bilirubin serum dan urin. Penimbunan pigmen empedu dalam tubuh menyebabkan warna jaringan menjadi kuning dan disebut sebagai ikterus. Hal ini dapat dideteksi pada sklera kulit atau urin yang menjadi gelap bila serum mencapai 2-3 mg/dl (bilirubin normal: 0,3-1,0 mg/dl). Jaringan permukaan yang kaya elastin (sklera dan permukaan bawah lidah) biasanya menjadi kuning pertama kali.

2. Diagnosis terhadap fungsi biokimia yang spesifik

GOT (Glutamat Oxaloasetat Transaminase) dan GPT (Glutamat Piruvat Transaminase), LDH (Laktat

Dehidrogenase) adalah enzim intrasel yang berada di jantung, hati, jaringan skelet, yang dilepas dari jaringan yang rusak (nekrosis), meningkat pada kerusakan sel hati dan pada keadaan lain terutama infark miokard.

Alkali fosfatase adalah enzim yang dibentuk dalam tulang, hati, ginjal, usus halus, dan diekskresi ke dalam empedu kadar meningkat pada biliaris, penyakit tulang dan metastasis hati.

2.7.4 Pengujian Gangguan Fungsi Hati

Tanda-tanda kerusakan hati yang dapat diamati secara mikroskopis adalah :

1. Degenerasi

Cedera karena paparan senyawa toksik dapat menyebabkan pembengkakan dan edema hepatosit. Pada degenerasi hidropik tampak sel-sel yang sitoplasmanya pucat, bengkak dan timbul vakuola-vakuola di dalam sitoplasma, karena penimbunan cairan. Hepatotoksik dan obat juga dapat menyebabkan penimbunan tetesan lipid (steatosis). Hepar secara mikroskopis terlihat gambaran vakuol lemak kecil dalam sitoplasma di sekitar inti (mikrovesikular steatosis), yang dapat berlanjut membentuk vakuol besar yang mendesak inti ke tepi sel (makrovesikular steatosis) (Amalina, 2009).

Dalam hepar, penimbunan lemak ringan dapat tidak berpengaruh pada penampakan makro. Bila penimbunan progresif, hepar membesar dan bertambah kuning, pada keadaan ekstrim, hepar dapat seberat tiga

sampai enam kg dan berubah menjadi hepar yang kuning, lunak, dan berminyak (Amalina, 2009).

Degenerasi bengkak keruh (*Cloudy swelling*) merupakan degenerasi ringan yang terdeteksi paling dini dari suatu keadaan patologik. Pada mikroskopis terlihat pembengkakan mitokondria, sitoplasma tampak keruh karena kadar protein dan asam amino bertambah, inhibisi sel oleh protein serum dan hidrasi ion Na^+ akibat permeabilitas dinding sel hati yang terganggu. Sitoplasma akan tampak bervakuola gelap daripada biasanya akibat kadar glikogen berkurang (Himawan, 1994).

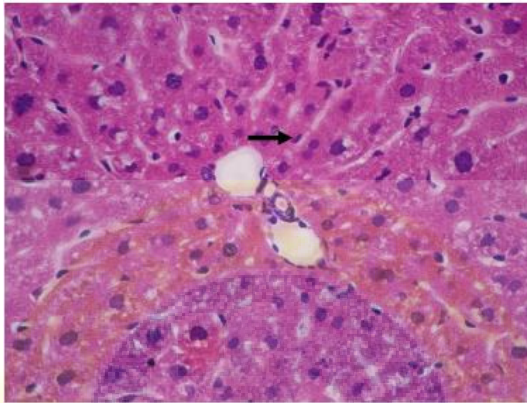
Degenerasi hidropik adalah degenerasi yang ditandai dengan penumpukan air dalam sel. Prinsipnya sama dengan bengkak keruh tapi tingkat kerusakan jaringan yang ditimbulkan lebih berat dengan jangka waktu yang lebih lama (Himawan, 1994).

2. Nekrosis

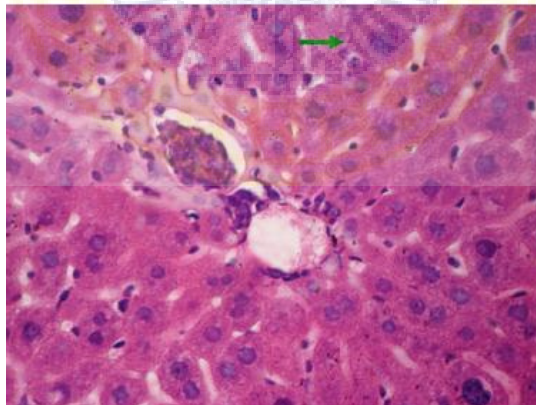
Kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen-segmen (karioreksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik (Amalina, 2009).

Piknosis ditandai terjadinya penggumpalan kromatin dan nucleus tidak dikenali lagi, tampak lebih padat dan gelap hitam. Karioreksis terjadinya kerusakan pada inti menjadi pecah berkeping-keping sehingga bentuknya menjadi tak teratur. Sitoplasma memanjang menyerap warna lebih banyak sehingga warnanya lebih gelap setelah

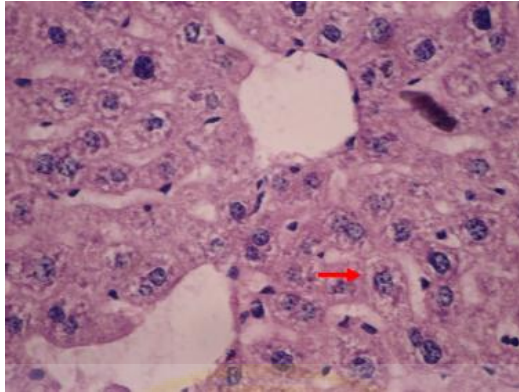
dilakukan pewarnaan. Kariolisis ditandai inti mulai hilang sulit diamati secara mikroskopik, bentuk sel lebih panjang dan warna menjadi tak jelas setelah dilakukan pewarnaan (Himawan, 1994).



Gambar 2.6 Histopatologi hepar mencit (Sel Normal).
Diambil dari : (Amalina, 2009)

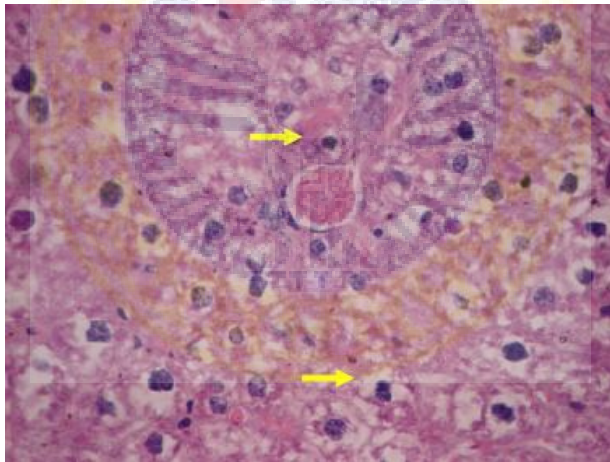


Gambar 2.7 Histopatologi hepar mencit (Degenerasi Parenkimatosa)
Diambil dari : (Amalina, 2009)



Gambar 2.8 Histopatologi hepar mencit (Degenerasi Hidropik)

Diambil dari : (Amalina, 2009)



Gambar 2.9 Histopatologi hepar mencit (Nekrosis Hepatosit)

Diambil dari : (Amalina, 2009)

2.8 Tinjauan Enzim SGOT dan SGPT

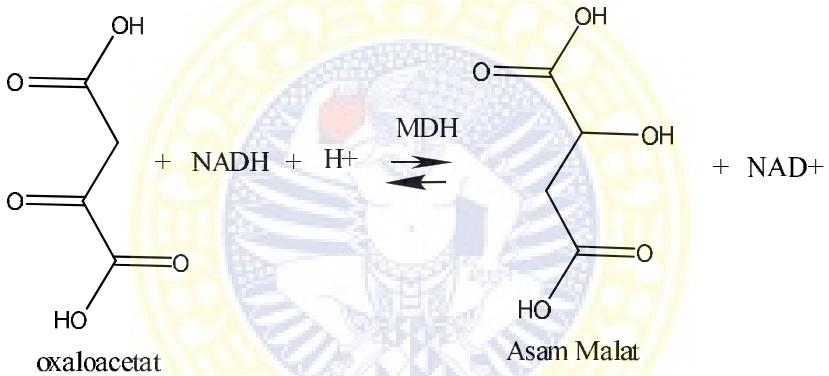
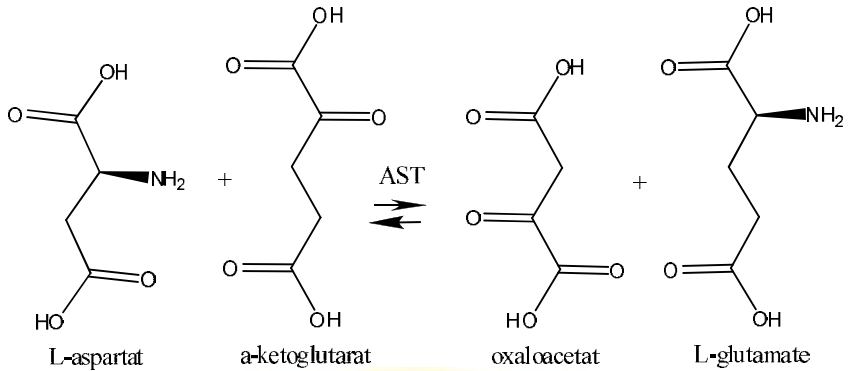
Ketika terjadi kerusakan pada jaringan, mungkin pembebasan enzim selular kedalam serum dan peningkatan enzim

spesifik yang berhubungan dengan kerusakan jaringan atau organ spesifik. Meskipun enzim beredar pada seluruh jaringan tubuh, peningkatan enzim ering berhubungan dengan penyakit hati.

Transaminase adalah sekelompok enzim dan bekerja sebagai katalisator dalam proses pemindahan gugus amino antara asam alfa amino dengan asam alfa keto (Page, 1997).

Peningkatan Aminotransferase (AST/SGOT) dan Alanintransferase (ALT/SGPT) sering mencerminkan kerusakan hepatoselular. AST ditemukan pada hati, otot jantung, otot rangka, ginjal, otak, pancreas, paru, leukosit, dan eritrosit. AST terbanyak terdapat pada otot jantung, kemudian pada hati, ginjal dan pankreas. Bila jaringan tersebut mengalami kerusakan akut seperti pada infark miokard atau hepatoseluler nekrosis, kadar AST dalam serum akan meningkat (Hadi, 2002).

Prinsip reaksi penentuan AST adalah Glutamat Oksaloasetat Transaminase mengkatalis reaksi antara asam α -ketoglutarat dengan L-aspartat menghasilkan suatu asam oksaloasetat dan asam L-glutamat. Asam oksaloasetat yang terbentuk, dengan adanya MDH (Malate Dehidrogenase) akan direduksi menjadi asam malat, bersamaan dengan itu NADH menjadi NAD⁺. NADH diabsorpsi pada panjang gelombang 340 nm. Kecepatan penurunan absorpsi pada panjang gelombang tersebut sebanding dengan aktivitas SGOT (Amadea, 1987).

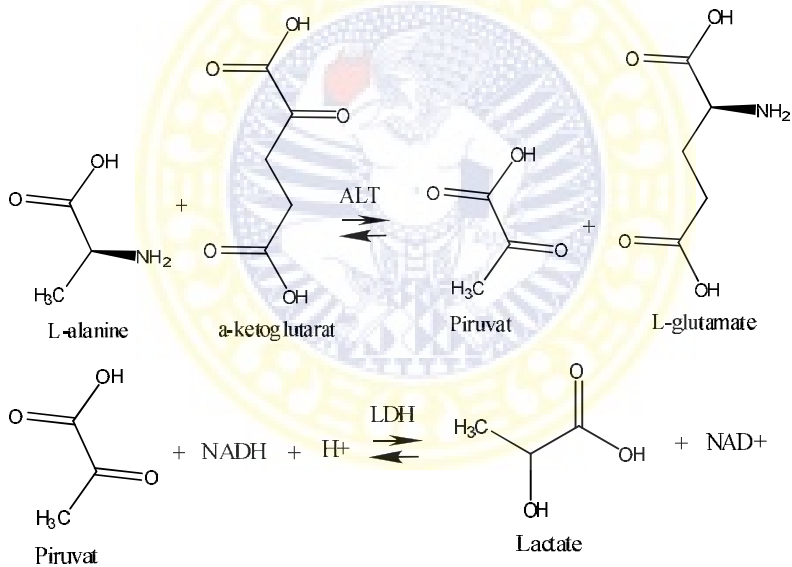


Gambar 2.10 Reaksi Enzimatis SGOT

ALT ditemukan utamanya pada hati dan ginjal, sedang dalam jantung dan otot skelet lebih sedikit dibandingkan AST. Peningkatan ALT lebih spesifik pada kerusakan hati daripada peningkatan AST. Adalah hal yang biasa bila terjadi sedikit peningkatan (hingga dua kali angka normal) kadar SGOT dan SGPT. Namun, kadar SGOT (Serum Glutamat Oxaloasetat Transaminase) dan SGPT (Serum Glutamat Piruvat Transaminase)

lebih dari dua kali angka normal, umumnya dianggap bermakna dan membutuhkan pemeriksaan lebih jauh (Hadi, 2002).

Prinsip reaksi penentuan ALT adalah Glutamat Piruvat Transaminase mengkatalisis reaksi antara α -ketoglutarat dengan L-alanin menghasilkan suatu asam piruvat dan asam L-glutamat. Asam piruvat yang terbentuk, dengan adanya LDH, akan direduksi menjadi asam laktat, bersamaan dengan NADH menjadi NAD⁺. NADH diabsorpsi pada panjang gelombang 340 nm. Kecepatan penurunan absorpsi pada panjang gelombang tersebut sebanding dengan aktivitas SGPT (Amadea, 1987).



Gambar 2.11 Reaksi Enzimatis SGPT

2.9 Analisis Data Uji Toksisitas Subakut

2.9.1 Pemeriksaan Kadar SGOT dan SGPT

Sejumlah 50 μL serum uji direaksikan dengan 500 μL pereaksi uji untuk pemeriksaan GOT atau GPT di dalam tabung reaksi 5 mL dihomogenkan dengan bantuan vortex. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer pada suhu 37°C tepat setelah menit ke 1, 2, dan 3 pada panjang gelombang 340 nm. Hal yang sama dilakukan terhadap blanko (pereaksi + aquades). Kadar GOT atau GPT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi sampel permenit dikalikan faktor 1745 (BPOM, 2014).

$$\Delta A \text{ sampel} = \frac{(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1)}{2}$$

$$\Delta A \text{ blanko} = \frac{(A_3 - A_2) + (A_2 - A_1)}{2}$$

$$\text{GOT (U/I)} = (\Delta A \text{ Sampel} - \Delta A \text{ blanko}) \times \text{faktor 1745}$$

$$\text{GPT (U/I)} = (\Delta A \text{ Sampel} - \Delta A \text{ blanko}) \times \text{faktor 1745}$$

Untuk pemeriksaan SGOT (BPOM, 2014) :

Pereaksi uji terdiri dari campuran 4 bagian pereaksi A dan 1 bagian pereaksi B.

Pereaksi A : 80 mM TRIS pH 7,8; 240 mM 1L-aspartat; ≥ 600

U/I MDH; ≥ 600 U/I LDH

Pereaksi B : 12 mM 2-oksaloglutarat; 0,18 mM NADH

Untuk pemeriksaan SGPT (BPOM, 2014) :

Pereaksi uji terdiri dari campuran 4 bagian pereaksi A dan 1 bagian pereaksi B.

Pereaksi A : 100 mM TRIS pH 7,15; 500 mM L-alanin; ≥ 1700
U/I LDH

Pereaksi B : 15 mM 2-oksaloqlutarat; 0,18 mM NADH

