

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan tentang *Andrographis paniculata* Nees.

##### 2.1.1 Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Solanaceae

Familia : Acanthaceae

Genus : *Andrographis*

Spesies : *Andrographis paniculata* Nees.

(Ratnani,2012)



(a)

(b)

**Gambar 2.1.** Morfologi Sambiloto

Keterangan: (a) *Andrographis paniculata* Nees. (b) Bunga sambiloto (Jayakumar *et al*, 2013)

### 2.1.2 Nama Daerah

Sumatera : Ampadu tanah (Minang),  
pepaitan(Melayu)

Jawa : ki oray, ki peurat, takilo (Sunda),  
takila, bidara, sadilata, sambiloto  
(Jawa) (Badan POM RI, 2010).

### 2.1.3. Tempat Tumbuh dan Penyebarannya

Sambiloto tumbuh liar di tempat terbuka, seperti di kebun, tepi sungai, tanah kosong yang agak lembab, atau di pekarangan. Tumbuh di dataran rendah sampai 700 m dpl. Seringkali tumbuh berkelompok. Tanaman ini tumbuh di daerah panas di wilayah Asia dengan iklim tropik dan sub tropik seperti di India, semenanjung Malaya, dan hampir pulau di seluruh Indonesia. Mampu tumbuh di ketinggian 1-700 meter dari permukaan laut. Faktor iklim yang mempengaruhi pertumbuhan sambiloto adalah curah hujan dan suhu. Sambiloto dapat tumbuh dengan baik pada curah hujan 2.000-3.000 mm/th, bulan basah (di atas 100 mm/bulan), bulan kering (di bawah 60 mm/bulan), dan suhu udara 25-32°C. Kelembaban yang dibutuhkan termasuk sedang, yaitu antara 70-90% dengan penyinaran agak tinggi. Intensitas cahaya sedang, tekstur tanah berpasir, drainase baik, kedalaman air tanah 200-300 cm dari permukaan tanah,

kedalaman perakaran lebih dari 25 cm dari permukaan tanah, keasaman (pH) 5,5-6,5, kesuburan sedang - tinggi (DepKes RI, 2010).

#### **2.1.4. Deskripsi Tanaman**

Terna semusim, tumbuh tegak, tinggi dapat mencapai 90 cm, batang berbentuk segi empat dengan rusuk yang jelas, menebal di bagian buku-buku batang. Helaian daun merupakan daun tunggal, terletak bersilang berhadapan, helaian daun bentuk lanset, ukuran 3-12 x 1-3 cm, panjang tangkai daun 0,2-0,5 cm, pangkal dan ujung helaian daun runcing, tepi daun rata, permukaan atas hijau tua, bagian bawah hijau muda. Perbungaan berupa bunga majemuk malai rata, di bagian ujung batang atau di bagian ketiak daun di bagian atas. Kelopak bunga berlekatan terbagi menjadi 5 helai. Daun mahkota 5, berlekatan membentuk tabung mahkota bunga, panjang tabung 6 mm, panjang helaian daun mahkota lebih dari panjang tabung mahkota, 2 helai daun mahkota di bagian atas (bibir atas) berwarna putih dengan garis kuning di bagian ujungnya, panjang helaian 7-8 mm, bibir bawah terdiri atas 3 helaian daun mahkota, putih atau putih disertai warna ungu. Tangkai sari 5, ukuran tangkai sari sepanjang mahkota bunga, tangkai sari melebar di bagian pangkal. Tangkai putik panjang melebihi panjang mahkota

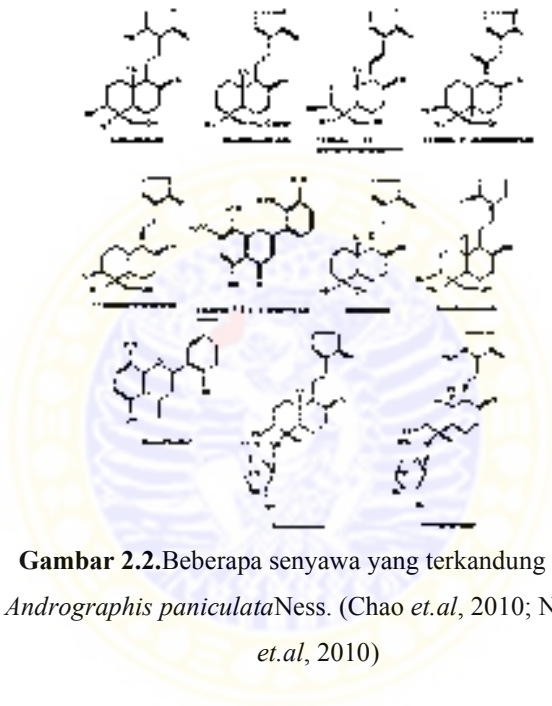
bunga. Buah berbentuk kapsul, berkatup dan berisi 3-7 biji berwarna coklat tua. Berbunga sepanjang tahun, semua bagian tanaman terutama daun sangat pahit.

Batang tidak berambut, tebal 2-6 mm, jelas persegi empat, batang bagian atas seringkali dengan sudut agak berusuk. Daun bersilang berhadapan, umumnya terlepas dari batang, bentuk lanset sampai bentuk lidah tombak. Permukaan atas berwarna hijau tua atau hijau kecoklatan, permukaan bawah berwarna hijau pucat. Kelopak bunga terdiri dari 5 helai daun kelopak, panjang 3-4 mm, berambut. Buah berbentuk kapsul, pangkal dan ujung tajam. Permukaan kulit luar buah berwarna hijau tua sampai hijau kecoklatan. Biji agak keras. Simplisia tidak berbau, rasa sangat pahit (DepKes RI, 2010).

#### **2.1.5. Kandungan Tanaman**

Herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) mengandung andrographolide yang memiliki kadar diterpenoid paling tinggi, 14-deoxy-11-oxoandrographolide, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographolide-andrographolide, 14-deoxyandrographolide, neoandrographolide pada herba kering, serta andrographidine, 5-hydroxy-7,8,2',3'-tetramethoxyflavone, andrographine, apigenin-4,6-dimethyl

ether,  $\beta$ -sitosterol, 5-hydroxy-2',3',7,8-tetramethoxyflavone, andrographinin pada akar (Benoy *et. al.*, 2012; Asean, 2010).



**Gambar 2.2.** Beberapa senyawa yang terkandung dalam *Andrographis paniculata* Ness. (Chao *et. al.*, 2010; Niranjana *et. al.*, 2010)

### 2.1.6. Kegunaan Tanaman

Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) secara ekstensif telah digunakan untuk terapi berbagai macam jenis pengobatan, antara lain pada *Traditional Chinese Medicine* (TCM), digunakan sebagai immunostimulant antara lain pada asma, gonorrhoea, disentri, dyspepsia, flu, diare, nyeri

abdomen, pharyngitonsillitis, kerontokan rambut, demam, ischemi, diabetes, infeksi saluran pernafasan, jaundice. Indikasi lain yang sering digunakan dari tanaman ini selain immunostimulant juga sebagai antiulcerogenik, antityphoid, antiplatelet agregasi, anti HIV, antimalaria, antifertilitas, anti inflamasi, dan antihyperglykemi (Benoyet.*al.*, 2012).

## **2.2. Tinjauan Tentang Ekstrak**

### **2.2.1. Definisi Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (DepKes RI, 1977). Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk (DepKes RI, 2000).

### **2.2.2. Definisi Ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok (DepKes RI, 2009). Ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa

diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes RI, 1995).

### 2.2.3. Definisi Fraksi

Fraksinasi merupakan pemisahan komponen suatu campuran misalnya ekstrak berdasarkan kesamaan karakteristik fisika kimianya. Fraksinasi awal dapat didasarkan pada kelarutan, sedangkan yang kedua memanfaatkan ukuran molekul senyawa.

Pemilihan metode fraksinasi tergantung oleh faktor:

1. Sifat senyawa yang terdapat pada ekstrak  
Memperkirakan tipe pelarut yang tepat digunakan dalam membuat ekstrak. Contoh: penggunaan air sebagai pengekstraksi digunakan pada komponen yang bersifat polar.
2. Ketersediaan dan harga pelarutan serta bahan yang akan digunakan
3. Keamanan  
Teknik dan bahan yang dipilih harus meminimalisir kemungkinan risiko yang terjadi, seperti tidak mudah terbakar dan tidak mudah meledak (Hendayana, 2006).

#### **2.2.4. Pelarut**

Larutan penyari yang baik harus memenuhi kriteria yaitu mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat, contoh cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air, dan eter (DepKes RI, 1986).

Keuntungan penggunaan etanol sebagai penyari yaitu tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, umumnya berlaku sebagai cairan pengekstraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan campuran etanol-air 70% sering dihasilkan bahan aktif yang optimal (Voigt, 1944). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan jamur sulit tumbuh dalam etanol 90% keatas, tidak beracun, netral, absorpsi baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Kekurangan etanol harganya mahal (DepKes RI, 1986).



## **2.3. Tinjauan Tentang Toksisitas**

### **2.3.1. Tinjauan Studi Toksisitas**

Toksikologi didefinisikan sebagai ilmu yang mempelajari tentang efek yang merugikan dari zat kimia pada sistem hidup dengan tujuan untuk memperkirakan bahaya yang ditimbulkan zat kimia tersebut terhadap manusia (Conning, 1993). Sebagai langkah awal untuk melindungi konsumen terhadap kemungkinan bahaya suatu obat, manfaat yang dapat diperoleh dari studi toksisitas (Ghosh, 1971; Loomis, 1978). Manfaat tersebut antara lain :

1. Mendapatkan gejala-gejala atau kelainan yang timbul akibat pemberian obat.
2. Mengetahui batas keamanan obat.
3. Mengetahui derajat kematian hewan coba akibat pemberian obat.

Penelitian toksisitas konvensional pada hewan coba sering mengungkapkan serangkaian efek akibat paparan toksikan dalam berbagai dosis untuk berbagai masa paparan. Karenanya, penelitian ini juga amat berharga untuk menunjukkan organ sasaran (misalnya hati), sistem (misalnya karsinogenesis) yang membutuhkan penelitian lebih lanjut (Lu, 1995).

### 2.3.2. Macam Studi Toksisitas

Pada umumnya segala metode uji toksisitas dapat dibagi menjadi dua golongan. Golongan pertama terdiri dari uji toksisitas yang dirancang untuk mengevaluasi keseluruhan efek umum suatu senyawa pada hewan eksperimental. Uji-uji ini diidentifikasi sebagai uji toksisitas akut, uji toksisitas subakut dan subkronik, serta uji toksisitas kronis. Golongan yang kedua yaitu uji toksisitas yang dirancang untuk mengevaluasi dengan rinci tipe toksisitas spesifik.

Termasuk dalam uji toksisitas spesifik ialah :

1. Uji toksisitas yang menentukan efek suatu zat dengan adanya zat-zat tambahan yang mungkin secara bersama-sama dijumpai, dan toksisitas dari suatu zat atau yang lain dapat diperkuat, yaitu uji potensi.
2. Uji toksisitas untuk menentukan efek atas janin (fetus) pada hewan bunting, yaitu uji teratogenik.
3. Uji toksisitas untuk menentukan efek atas kemampuan reproduktif hewan eksperimental, yaitu uji reproduksi.
4. Uji toksisitas untuk menentukan efek pada sistem kode genetika, yaitu uji mutagenik.

5. Uji toksisitas untuk menentukan kemampuan zat untuk menimbulkan tumor, yaitu uji kemampuan tumorigenisitas dan karsinogenisitas.
6. Uji toksisitas untuk menentukan efek lokal zat bilamana zat-zat itu dipakai secara langsung pada kulit dan mata.
7. Uji toksisitas untuk menentukan efek zat atas berbagai macam pola tingkah laku hewan, yaitu uji perilaku (Loomis, 1978).

Berdasarkan masa pajarannya, uji toksisitas dapat dibedakan menjadi:

#### **2.3.2.1. Uji Toksisitas Akut**

Uji toksisitas akut dimaksudkan untuk menentukan suatu gejala sebagai akibat pemberian suatu senyawa itu (Loomis, 1978). Uji toksisitas akut digunakan untuk menentukan tanda-tanda toksisitas dan efek pada biokimia, hematologi, dan parameter histologis (Morales, 2014). Uji ini merupakan suatu pengujian untuk menetapkan potensi toksisitas akut  $LD_{50}$ .  $LD_{50}$  didefinisikan sebagai “dosis tunggal suatu zat yang secara statistik diharapkan akan membunuh 50% hewan coba” (Lu, 1995). Pengujian ini dapat mendeteksi adanya toksisitas suatu zat,

menentukan organ sasaran dan kepekaannya, memperoleh data bahayanya setelah pemberian suatu senyawa secara akut dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan untuk uji toksisitas selanjutnya (Angelina, 2008).

Hewan coba yang digunakan minimal dua spesies (sebaiknya empat spesies) terdiri dari hewan jantan dan betina, dewasa, sehat, dan berat badan homogen. Jumlah minimal lima ekor untuk tiap peringkat dosis dan untuk tiap jenis kelamin (Kusumawati, 2004). Secara umum dalam penentuan  $LD_{50}$  digunakan tikus dan mencit. Hewan ini dipilih karena murah, mudah didapat, dan mudah ditangani. Selain itu, terdapat banyak data toksikologi tentang jenis hewan ini (Lu, 1995).

Cara pemberian bahan disesuaikan dengan pemberian bahan secara klinis dengan minimal empat peringkat dosis, dari dosis terendah yang tidak mematikan hewan sampai dengan dosis tertinggi yang mematikan hampir semua hewan. Bahan ini diberikan sebagai dosis tunggal (Kusumawati, 2004). Jalur oral paling sering digunakan. Bila akan

diberikan per oral, zat tersebut harus diberikan dengan sonde (Lu, 1995).

Jangka waktu pengamatan hewan coba biasanya 48 jam setelah pemberian zat (Hosseinzadeh, 2013). Pengamatan dilakukan terhadap gejala klinis, berat badan, jumlah hewan yang mati dan histopatologi (Kusumawati, 2004). Otopsi kasar harus dilakukan pada semua hewan yang mati dan beberapa hewan yang hidup, terutama hewan yang tampak sakit pada akhir percobaan. Otopsi dapat memberikan informasi yang berharga tentang organ sasaran, terutama bila kematian tidak terjadi segera setelah pemberian zat kimia (Lu, 1995).

#### **2.3.2.2. Uji Toksisitas Subkronik**

Uji toksisitas subkronik adalah uji yang digunakan untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa yang dilakukan pada hewan coba dengan sedikitnya tiga tingkat dosis, umumnya dalam jangka waktu 90 hari (Nisa et al., 2013). Tujuan dari uji toksisitas subkronik adalah secara umum untuk mengevaluasi dan menggolongkan segala efek senyawa apabila senyawa itu diberikan kepada

hewan uji secara berulang-ulang biasanya sekali sehari selama tiga sampai empat bulan(Loomis, 1978).

Hewan coba yang digunakan umumnya dua spesies atau lebih. Hewan ideal yang dipilih adalah yang memetabolisme zat kimia tersebut dengan cara yang sama dengan manusia. Dikarenakan hal yang tidak memungkinkan, biasanya dipilih tikus dan anjing. Pilihan ini didasarkan pada ukuran yang sesuai, kemudahan mendapatkannya, dan banyaknya informasi toksikologi berbagai zat kimia pada hewan ini. Hewan jantan atau betina harus sama jumlahnya. Umumnya dipakai 10-30 ekor tikus atau 4-8 ekor anjing dalam setiap kelompok dosis dan kelompok pembanding (Lu, 1995).

Dosis dipilih berdasarkan informasi yang diperoleh dari uji toksisitas akut, baik berupa  $LD_{50}$  maupun kemiringan kurva dosis-respon. Disarankan untuk memilih tiga dosis, dosis-dosis tersebut diantaranya satu dosis yang cukup tinggi untuk menimbulkan tanda toksisitas yang pasti tetapi tidak cukup tinggi untuk membunuh sebagian besar hewan itu, dosis rendah yang diharapkan tidak akan

memberikan efek toksik sama sekali, dan dosis menengah (Lu, 1995).

Uji toksisitas subkronik dilakukan dengan memberikan bahan uji berulang-ulang, biasanya setiap hari atau minimal lima hari seminggu selama 7-9 hari (Diana, 1992). Adapun penelitian menggunakan jangka waktu yang lebih singkat misalnya pemberian bahan uji selama 14 dan 28 hari. Pengamatan dan pemeriksaan yang perlu dilakukan diantaranya:

1. Berat badan dan konsumsi makanan, merupakan indikator penting dalam hasil efek yang sama atau memperberat toksik zat kimia.
2. Pengamatan umum, meliputi penampilan, perilaku, dan semua abnormalitas.
3. Uji laboratorium, mencakup pemeriksaan hematologik, uji kimia darah meliputi SGOT, SGPT, alkalin fosfatase, protein total, albumin, globulin, BUN, Na, K, Ca, dan Cl. Urinalisis meliputi warna, berat jenis, pH, protein, glukosa, keton, sel darah merah, dan kristal serta benda amorf. (Lu, 1995).

### **2.3.2.3. Uji Toksisitas Kronis**

Pada uji toksisitas ini dilakukan dengan jangka waktu setahun atau lebih, hal ini bertujuan untuk memaparkan ada tidaknya efek toksik bila dosis yang diberikan mewakili satu tingkat dosis lazim serta untuk mengetahui potensi karsinogenik suatu senyawa (Loomis, 1978).

Keracunan kronik ditandai dengan munculnya gejala keracunan setelah pemberian sediaan dalam jangka waktu panjang, mulai dari berbulan-bulan atau bertahun-tahun yang dapat menimbulkan kerusakan irreversible pada organ atau proses tertentu dalam suatu periode (Koeman, 1987).

Uji toksisitas kronis biasanya menggunakan satu spesies hewan atau lebih, kecuali terdapat indikasi lain seperti tikus, anjing, dan primata-bukan-manusia. Hewan jantan dan betina harus digunakan dalam jumlah yang sama. Biasanya digunakan 40-100 tikus dalam setiap kelompok uji dan kelompok kontrol. Untuk anjing dan primata-bukan-manusia, digunakan jumlah yang jauh lebih kecil. Cara pemberian sama seperti pemberian zat dalam penelitian jangka pendek (Lu, 1995). Bahan



diberikan dalam tiga peringkat dosis selama 18 bulan atau lebih (Kusumawati, 2004).

Pemeriksaan yang dilakukan selama uji toksisitas kronis adalah :

2.3.2.3.1. Hematologi : hematokrit, Hb, total eritrosit, total leukosit, total platelet, limfosit.

2.3.2.3.2. Fungsi hati : retensi bromsulphalein, bilirubin serum, SAP, SGOT, SGPT, *lactic dehydrogenase*, *serum isocitric dehydrogenase*.

2.3.2.3.3. Fungsi ginjal : BUN, kreatinin (Kusumawati, 2004).

Pemeriksaan pasca mati terhadap jantung, paru-paru, hepar, pankreas, ginjal, limpa, adrenal, usus, lambung, gonad, otak, dan organ-organ terkait (Kusumawati, 2004).

## **2.4. Tinjauan tentang Darah**

### **2.4.1. Tinjauan tentang Hemoglobin**

Eritrosit memiliki bentuk cekung bikonkaf, yang mengandung hemoglobin, yang berfungsi sebagai transport O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>. Eritrosit berdiameter 8 µm, bentuk bikonkaf dapat memberikan fleksibilitas pada kapiler yang kecil dalam

mengantar O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> ke seluruh jaringan. Dibentuk di sumsum tulang, kemudian eritrosit dihancurkan oleh limpa setelah 120hari.

Ciri khas dari tipe darah ini, eritrosit medominasi pada mikroskopis, dan berbentuk bikonkaf menyerupai bentuk donat. Bagian tepi luar yang tebal eritrosit, berwarna merah dan pada bagian tengah yang tipis, eritrosit berwarna tampak pucat.

Hemoglobin merupakan bagian terpenting pada eritrosit. Protein ini terdiri dari dua subunit  $\alpha$ -protein dan dua subunit  $\beta$ -protein (pada hemoglobin normal, disebut hemoglobin A). Masing-masing dari subunit  $\alpha$  atau  $\beta$  mengandung bagian yang secara aktual mengangkut oksigen kompleks, yaitu heme. Heme merupakan bagian dengan atom penting yaitu zat besi yang membantu dalam pengikatan oksigen di paru-paru dan melepaskannya pada jaringan tubuh. Kandungan hemoglobin yang rendah pada darah menyebabkan menurunnya proses penyebaran oksigen, yang biasa disebut anemia (McPheeet.al., 2005). Kadar hemoglobin normal pada tikus adalah 11,1-18 g/dl (Widyastuti, 2013).

### 2.4.2. Tinjauan tentang Leukosit

Pertahanan tubuh melawan infeksi adalah peran utama leukosit atau sel darah putih. Batas normal jumlah sel darah putih berkisar 4.000-10.000/mm<sup>3</sup> pada manusia, dan 5000-25000 sel/ $\mu$ l pada tikus (Fahrimal et al., 2014). Ada lima jenis sel darah putih yang sudah diidentifikasi dalam darah perifer, yaitu:

#### 1. Neutrofil

Kadar neutrofil 50-70% dari leukosit total (Wang, 2014). Sel granulosit yang efektif dalam mempertahankan tubuh terutama terhadap infeksi bakteri. Granul neutrofil mengandung enzim aktif seperti myeloperoksidase yang melawan ion oksigen radikal yang diproduksi oleh oksidasi membran enzim Nicotinamide Adenin Dinucleotide Phosphate (NADPH), neutrofil membunuh bakteri melalui endositosis atau fagositosis. Masa hidup neutrofil pada darah adalah 6-8 jam, yang memiliki masa hidup lebih rendah dibandingkan dengan masa hidup sel lainnya (McPhee, *et.al.*, 2005). Granula neutrofil memiliki afinitas sedikit pada zat warna basa atau eosin, yang memberi warna biru atau merah pucat yang dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna

merah muda (Baldy, 2005). Nilai total neutrofil selanjutnya disebut ANC, yakni jumlah neutrofil imatur dan neutrofil matur yang beredar di dalam darah tepi. Jumlah ANC dapat dihitung dari hasil hitung jumlah dengan menjumlahkan prosentase dari segmen dan batang kemudian dikalikan dengan jumlah total leukosit (Utama, 2012). Pada tikus putih, persentase neutrofil normal adalah 7-25% dari leukosit total (Widyastuti, 2013).

2. Eosinofil

Kadar eosinofil dalam leukosit 1-2%. Fungsi pada reaksi antigen-antibodi dan meningkat pada serangan asma, reaksi obat-obatan, dan infestasi parasit tertentu. Memiliki afinitas eosin yang berwarna merah sampai merah jingga (Baldy, 2005).

3. Basofil

Kadar dalam leukosit 0,5-1%. Basofil memiliki granul yang berukuran besar dalam sitoplasmanya. Basofil berfungsi dalam reaksi hipersensitivitas (McPheeet.al, 2005).

4. Monosit

Kadar dalam leukosit 6%. Ukurannya lebih besar daripada neutrofil dan memiliki inti monomorfik yang relatif sederhana. Masa hidup

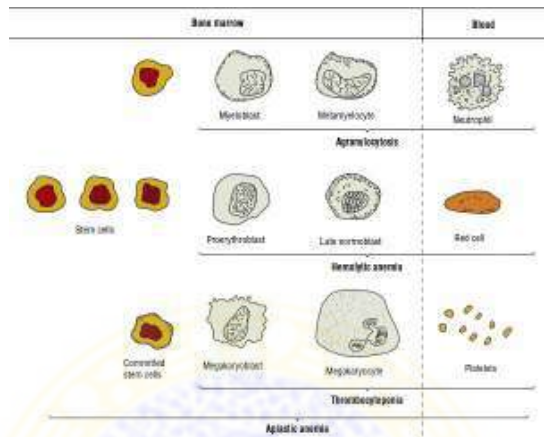
monosit sangat panjang, beberapa bulan. Monosit berperan dalam membuang sel-sel cedera dan mati, fragmen-fragmen sel dan mikroorganisme (McPhee *et al*, 2005). Kadar monosit normal pada tikus putih adalah 0-5% (Radiati *et. al.*, 2008).

#### 5. Limfosit

Kadar dalam leukosit 25-33%. Inti bulat atau oval dengan sitoplasma sempit berwarna biru yang mengandung sedikit granula. Terdapat dua jenis limfosit yaitu limfosit-T dan limfosit-B (Baldy, 2005). Keduanya berfungsi dalam sistem kekebalan tubuh dalam darah atau dalam sistem limfatik (McPhee *et al*, 2005). Kadar normal leukosit pada tikus putih adalah 63-84% (Radiati *et. al.*, 2008).

#### 2.4.3. Tinjauan tentang Trombosit

Trombosit merupakan salah satu elemen darah yang berdiameter 2-4 $\mu$ m dan memiliki masa hidup sekitar 10 hari. Trombosit merupakan fragmen berukuran besar yang disebut megakaryosit, tidak memiliki inti, dan terdiri dari sitoplasma yang dikelilingi oleh membran plasma. Trombosit dalam tubuh berjumlah antara 150.000-450.000 sel/mL, dengan 70% berada dalam sirkulasi dan 30% pada limfa sebagai sumber cadangan (Sharathkumar, 2008).



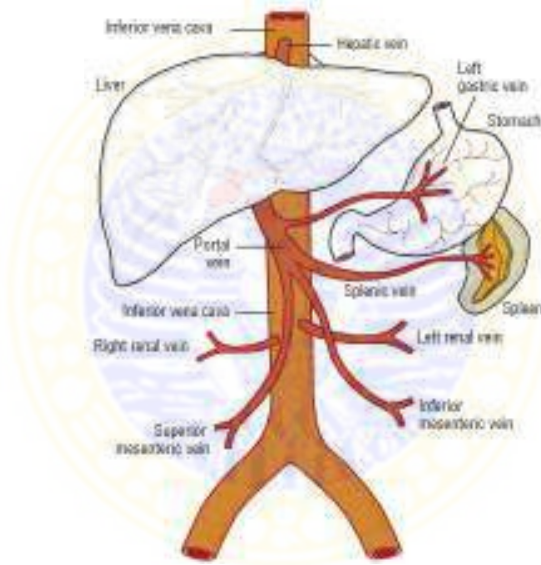
**Gambar 2.3.** Anatomi Sel Darah (DiPiro *et.al*, 2008)

## 2.5. Tinjauan tentang Hati

### 2.5.1. Anatomi Fisiologi Hati

Hati merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia, dengan berat sekitar 1400 gram atau 2,5% berat badan pada orang dewasa normal (McPhee *et. al.*, 2005). Hati terbagi menjadi dua lobus kanan dan lobus kiri. Ligamentus falsiforme memisahkan lobus kanan dan lobus kiri (Jamieson, 2003). Pada bagian inferior terdapat fisura untuk ligamentus teres dan pada bagian posterior terdapat fisura untuk ligamentus venosum (Skandalakis, 2004). Lobus terbagi menjadi 3, yaitu:

1. Vena interlobularis diantara lobulus-lobulus.
2. Vena sentralis pada lobulus membentuk vena sublobularis menuju vena hepatica.
3. Permukaan apikal membentuk kanalikuli empedu dan permukaan basolateral yang kontak dengan aliran darah. Keduanya diikat oleh *tight junction*.



**Gambar 2.4.** Anatomi Fisiologi Hati (DiPiro *et al*, 2008)

Hati manusia berisi 50.000 sampai 100.000 lobulus. Lobulus hati terbentuk mengelilingi sebuah vena sentralis yang mengalir ke vena hepatica dan kemudian ke vena cava.

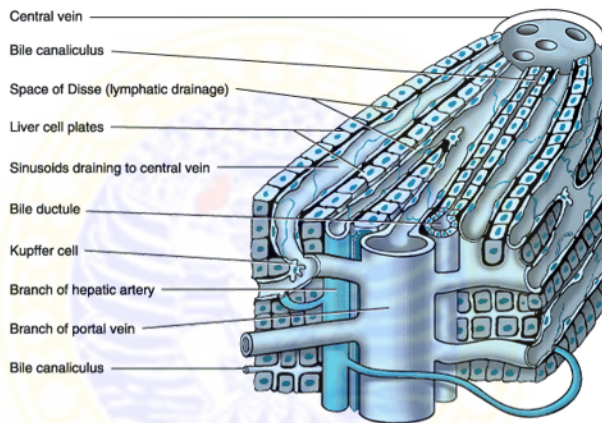
Lobulus sendiri dibentuk terutama dari banyak lempeng sel hati (hepatosit). Diantara sel yang berdekatan terdapat kanalikuli biliaris kecil yang mengalir ke duktus biliaris di dalam septum fibrosa yang memisahkan lobulus hati yang berdekatan (Guyton and Hall, 1997., Bilal et al., 2013).

### **2.5.2. Histologi Hati**

Parenkim hati disusun oleh hepatosit yang ditunjang oleh sel retikuloendotelial. Plat hepatosit umumnya satu sel tebal, dan plat individu memisahkan satu sama lain ruang pembuluh darah yang disebut sinusoid. Pada sinusoid, darah dari pembuluh arteri hepatic bercampur dengan darah dari vena portal dalam perjalanan ke vena pusat. Sel retikuloendotelial dimana hepatosit terdiri dari berbagai sel, beberapa diantaranya yang penting yaitu sel-sel endotel yang membentuk dinding sinusoid, makrofag khusus yang disebut sel Kupfer dimana menempel pada ruang sinusoid dan sel stelat atau liposit yang terlibat dalam metabolisme vitamin A, yang terletak antara hepatosit dan sel-sel endotel. Sekitar 30% sel hati terdiri dari sel retikuloendotelial, dan 33% merupakan sel Kupfer. Sel retikuloendotelial memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan sel hepatosit, sehingga sistem retikuloendotelial hanya 2-10% dari total protein dalam hati. Sel retikuloendotelial bukan hanya sebagai tempat hepatosit,



melainkan juga berperan dalam fungsi tertentu, termasuk fagositosis dan sekresi sitokin, dan berkomunikasi satu sama lain dan juga dengan hepatosit. Disfungsi yang terjadi dapat memberikan kontribusi baik pada nekrosis hepatosit pada penyakit hati akut dan untuk fibrosis hati pada penyakit hati kronis (McPhee *et al*, 2005)



**Gambar 2.5.** Struktur Lobulus Hati (McPhee *et al*, 2005)

### 2.5.3. Fungsi Hati

Hati merupakan organ parenkim yang berukuran terbesar dan menduduki urutan pertama dalam hal jumlah, kerumitan, dan ragam fungsi. Hati sangat penting dan berperan dalam setiap fungsi metabolik tubuh, terutama bertanggung jawab atas lebih dari 500 aktifitas yang berbeda. Telah dilakukan penelitian pada hewan coba, bahwa

pengambilan 80% - 90% parenkim hati, hewan masih dapat menunjukkan fungsi hati yang normal. Sehingga untuk menghabiskan daya cadangan ini, diperlukan penyakit yang mengenai seluruh parenkim hati (Robbins dan Kumar, 1995; Price dan Wilson, 2005). Hati merupakan kelenjar tubuh terbesar dan memiliki multifungsi kompleks, diantaranya:

1. Fungsi sebagai metabolisme energi dan interkonversi substrat.
2. Fungsi sebagai sekresi dan sintesis protein plasma.
3. Fungsi sebagai solubilisasi, transport, dan penyimpanan dari hepar.
4. Fungsi sebagai protektif dan klirens.

(McPhee *et.al*, 2005)

#### **2.5.3.1. Pembentukan Energi dan Interkonversi Substrat**

Sebagian besar karbohidrat, lemak, dan protein tubuh disintesis dimetabolisme, dan interkonversi dalam hati. Produk didapat dari atau dikeluarkan ke dalam aliran darah sebagai respons terhadap kebutuhan substrat dan energi oleh tubuh (McPhee *et. al.*, 2005). Aktivitas pembentukan energi dan interkonversi substrat dari hati antara lain:

**a. Metabolisme glukosa**

Sewaktu makan, kadar glukosa dalam vena porta yang tinggi akan merangsang enzim-enzim tertentu untuk memulai proses glikolisis, siklus asam sitrat, dan sintesis glikogen. Pada keadaan puasa atau stress (dimana membutuhkan suplai glukosa dengan kadar lebih tinggi), maka hepar akan dirangsang untuk memproduksi glukosa dengan proses glikogenolisis dan glukoneogenesis.

**b. Metabolisme protein**

Terjadi deaminasi oksidatif asam amino dan konversi ammonia menjadi urea yang relatif kurang toksik melalui siklus urea.

**c. Metabolisme lemak**

Hepar mensintesis 80% kolesterol tubuh dari asetil Ko-A, mensintesis trigliserida dari asam lemak, menyimpan, mendistribusikannya serta memproduksi badan keton dari oksidasi asam lemak. Untuk mengatur kadar trigliserida dan kolesterol, hepar mensekresi lipoprotein. Salah satu lipoprotein tersebut adalah VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*). Yang berfungsi mendistribusikan lipid ke dalam jaringan dan mengangkut kelebihan lipid yang tidak diperlukan oleh jaringan. Selain itu, juga terjadi ambilan kolesterol dan trigliserida secara endositosis oleh HDL (*High Density Lipoprotein*) dan LDL (*Low Density Lipoprotein*)

serta klirens sisa HDL, LDL, dan kilomikron (McPhee *et al*, 2005).

### **2.5.3.2.Sintesis dan Sekresi 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 daerah (faktor II, VII, IX, X), insulin like growth factor I, dan steroid hormone-binding globulin, yaitu suatu protein karier untuk steroid dalam peredaran darah (McPhee *et al*, 2005).

### **2.5.3.3.Fungsi Transpor, Solubilisasi, dan Penyimpanan dari Hepar**

Hati memiliki peranan penting dalam solubilisasi, transport, dan penyimpanan berbagai macam bahan kimia. Fungsi ini dilakukan oleh sel hati dengan mensintesis protein tertentu (McPhee *et al*, 2005).

#### **a. Sirkulasi enterohepatik dari empedu**

Empedu adalah suatu zat seperti detergen yang disintesis oleh hati dengan fungsi membantu meningkatkan kelarutan senyawa yang semula tidak larut menjadi larut dan

dapat dengan mudah dibawa masuk atau keluar dari tubuh. Empedu mengalami siklus ulang yang disebut sirkulasi enterohepatik antara hati dan usus. Setelah disintesis, empedu ditranspor ke kanalikuli empedu (terdapat pada membran plasma apikal hepatosit), lalu empedu dikumpulkan dalam saluran empedu (kadang dalam kandung empedu) dan diekskresi melalui saluran empedu ke duodenum. Saat berada di sitoplasma hepatosit, banyak asam empedu dikonjugasi dengan gula untuk meningkatkan kelarutan lemak, memfasilitasi proses pencernaan dan proses absorpsi lemak. Pada ujung ileum, garam empedu deconjugated ditranspor dari sel usus (enterosit) ke aliran darah portal sehingga membawanya kembali ke hati (sitosol hepatosit) oleh transporter asam empedu untuk direkonjugasi dan mengalami siklus enterohepatik selanjutnya (McPhee *et al*, 2005).

**b. Metabolisme dan ekskresi obat**

Pada umumnya enzim yang mengatur proses metabolisme yang diperlukan untuk detoksifikasi dan ekskresi obat serta bahan lain terdapat pada retikulum endoplasma dari hepatosit. Jalur ini tidak hanyadigunakan untuk metabolisme dari obat-obat eksogen tetapi juga untuk bahan-bahan endogen yang sulit diekskresi oleh sel (misalnya bilirubin dan kolesterol). Pada sebagian besar kasus, metabolisme ini meliputi konversi dari bahan lipofilik yang sulit diekskresi

karena ada halangan partisi dengan membran sel, menjadi bahan yang hidrofilik. Proses ini meliputi katalisis dari ikatan kovalen sehingga bahan menjadi lebih mudah berpartisipasi ke medium aqueous, atau terlarut dalam cairan empedu. Sebagai hasil dari proses ini, bahan yang telah mengalami biotransformasi dapat dengan mudah diekskresi langsung melalui feses (McPhee *et al*, 2005).

**c. Fase dalam biotransformasi**

Biotransformasi umumnya terjadi dalam dua fase. Fase pertama meliputi peristiwa oksidasi-reduksi dimana terjadi penambahan beberapa gugus fungsi yang mengandung oksigen pada bahan yang akan diekskresikan. Proses oksidasi ini tidak memberikan efek yang berarti dalam meningkatkan kelarutan bahan dalam air. Proses ini membuat obat menjadi lebih reaktif untuk mengalami reaksi selanjutnya sehingga dapat meningkatkan kelarutannya dalam air. Sedangkan reaksi pada fase dua, biasanya meliputi proses pengikatan obat dengan pembawa yang larut air seperti asam glukuronat atau peptide glutation. Namun, reaksi fase satu oksidasi sering merubah obat toksik menjadi lebih reaktif (McPhee *et al*, 2005).

**d. Peran dalam solubilisasi apolipoprotein dan transport lipid**

Proses detoksifikasi dan transport yang dilakukan oleh hepatosit berfungsi untuk merubah bahan hidrofobik dengan berat molekul rendah (seperti obat dan bilirubin) menjadi lebih hidrofilik dan lebih larut air sehingga bisa diekskresi (melalui ginjal atau empedu). Tubuh membutuhkan sebuah mekanisme pendistribusian lipid ke seluruh tubuh, dan mekanisme untuk mengambil kembali lipid yang berlebihan. Proses ini mengharuskan lipid harus terlarut dalam bentuk terdispersi sehingga dapat diangkut dalam aliran darah. Untuk itu, hepatosit mensintesis apolipoprotein. Apolipoprotein ini merupakan suatu lipoprotein yang mendistribusi dari dan ke jaringan melalui reseptor yang termediasi endositosis (McPhee *et al*, 2005).

**e. Sintesis dari protein pengikat**

Berbagai macam sel dalam hati mensintesis protein yang mengikat bahan tertentu, seperti beberapa vitamin, mineral, dan hormon. Dalam beberapa kasus, protein membantu dalam pengangkutan bahan-bahan tertentu dalam aliran darah dimana dia tidak terlarut, seperti globulin yang mengikat steroid. Pada kasus lain, protein pengikat disintesis oleh hati (seperti hormon tiroid yang terikat globulin) mendistribusikan bahan-bahan tertentu seperti tiroksin tidak

dapan menghantarkan tiroksin seluruhnya pada jaringan. Pada cara ini, konsentrasi efektif dari bahan terbatas pada konsentrasi bebasnya pada saat kesetimbangan (McPhee *et al*, 2005).

Pada beberapa kasus, protein pengikat yang dibuat oleh hati menyebabkan akumulasi bahan-bahan tertentu dalam konsentrasi tinggi, misalnya transferin. Transferin merupakan protein pengikat Fe yang disintesis dan disekresi oleh sel hati ke aliran darah. Selama pengikatan Fe bebas pada pH darah normal, transferin mengembangkan afinitasnya terhadap reseptor spesifik pada membran di hepatosit (reseptor transferin). Selama terikat dengan reseptor, kompleks dari reseptor transferin memasuki sel melalui mekanisme endositosis, dan kondisi lingkungan menjadi asam secara progresif. Pada lingkungan dengan pH rendah (asam) Fe terlepas dari ikatannya dengan transferin. Namun, perubahan konformasi yang terjadi membuat transferin semakin terikat kuat dengan reseptornya meskipun tidak mengikat Fe lagi. Kemudian, reseptor kembali ke permukaan sel dengan membawa transferin kosong (tanpa Fe). Kondisi pH netral pada permukaan sel, menyebabkan transferin yang kekurangan Fe terlepas dari reseptornya, dan siklus kembali berjalan. Di sisi lain, Fe bebas yang terlepas dari transferin dalam suasana asam bergerak menuju sitoplasma hepatosit



bersama feritin. Feritin merupakan protein sitoplasma yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan Fe, sehingga Fe dapat dimasukkan ke dalam sel untuk memenuhi kebutuhan sel. Dinamika yang serupa juga terjadi pada protein dan bahan-bahan lain (McPhee *et al*, 2005).

#### **2.5.3.4.Fungsi Klirens dan Protektif**

Terdapat empat macam fungsi klirens dan protektif yang dilakukan oleh hati, yaitu:

**a. Fungsi fagositosis dan endositosis dari sel kupffer**

Hati membantu mengeluarkan bakteri dan antigen yang menembus lambung dan masuk ke pembuluh darah portal serta membantu membersihkan sirkulasi darah. Reseptor khusus yang terdapat dalam sel kupffer akan mengikat glikoprotein (melalui reseptor karbohidrat), menyelimuti material dengan immunoglobulin (melalui reseptor Fe) atau berkomplemen (melalui reseptor C3), kemudian merusak protein plasma, mengaktifkan faktor-faktor pembekuan darah dan imun kompleks (McPhee *et al*, 2005).

**b. Fungsi endositik dari hepatosit**

Hepatosit memiliki beberapa reseptor spesifik untuk protein-protein plasma rusak yang berbeda dengan reseptor yang ada di sel kupffer, contohnya reseptor asialoglikoprotein

yang secara spesifik mengikat glikoprotein yang residu gula asam sialik terminal telah dipindahkan. Namun secara signifikan mekanisme aksi metabolik secara spesifik belum jelas (McPhee *et al*, 2005).

**c. Metabolisme ammonia**

Amonia, merupakan hasil deaminasi dari asam amino, di metabolisme oleh hepatosit menjadi urea yang lebih tidak toksik. Gangguan pada fungsi ini akan menyebabkan gangguan status mental yang merupakan manifestasi umum dari penyakit liver tahap akhir (McPhee *et al*, 2005).

**d. Sintesis glutathion oleh hepatosit**

Glutathion merupakan reagen intraseluler pereduksi utama yang penting dalam mencegah kerusakan oksidatif pada protein seluler. Molekul ini merupakan tripeptida yang tidak memiliki ribosom yang juga merupakan substrat untuk banyak reaksi konjugasi (metabolisme fase II) untuk detoksifikasi obat. Hati juga mengeluarkan glutathion untuk digunakan oleh jaringan lain (McPhee *et al*, 2005).

#### **2.5.4. Deteksi Kerusakan Hati**

Pemeriksaan adanya kerusakan pada organ hati dapat dilakukan melalui beberapa cara, diantaranya:

1. Patologi Makroskopik

Warna dan penampilan seering dapat menunjukkan sifat toksisitas, seperti perlemakan hati atau sirosis. Biasanya berat organ merupakan petunjuk yang sangat peka dari efek pada hati. Meski suatu efek tidak selalu menunjukkan toksisitas, dalam kasus tertentu peningkatan berat hati merupakan kriteria paling peka untuk toksisitas (Lu, 1995).

2. Pemeriksaan Mikroskopik

Mikroskop cahaya dapat mendeteksi berbagai jenis kelainan histologi, seperti perlemakan, nekrosis, sirosis, nodul hiperplastik, dan neoplasia. Mikroskop elektron dapat mendeteksi perubahan dalam berbagai struktur subsel (Lu, 1995).

3. Test Laboratorium

Diagnosis ini untuk meliputi tes availabilitas dan sensitivitas dari penyakit dan fungsi hati. Pengujian pada darah khusus digunakan untuk penilaian awal tingkat kerusakan hati, termasuk mengukur tingkat serum alanin, dan aspartat aminotransferase (ALT dan AST), alkali phosphatase, total serum bilirubin, dan albumin dengan mengukur waktu prothrombin. Dalam kerusakan hati,

hepatoseluler dan cholestatic dapat dibandingkan untuk mengetahui kondisi penyakit hati akut atau kronik dan sirosis. Tes  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase (GGT) juga dapat mendeteksi kerusakan hati baik pada hewan coba maupun manusia, serologi hepatitis untuk mendeteksi tipe hepatitis viral, dan marker autoimun untuk mendiagnosa sirosis (antimitokondrial antibodi, AMA); sclerosing cholangitis (antibodi periperil antineutrofil sitoplasma, P-ANCA), dan autoimun hepatitis (antinuklear, dan antibodi mikrosomal liver-ginjal). (Fauci, 2008)

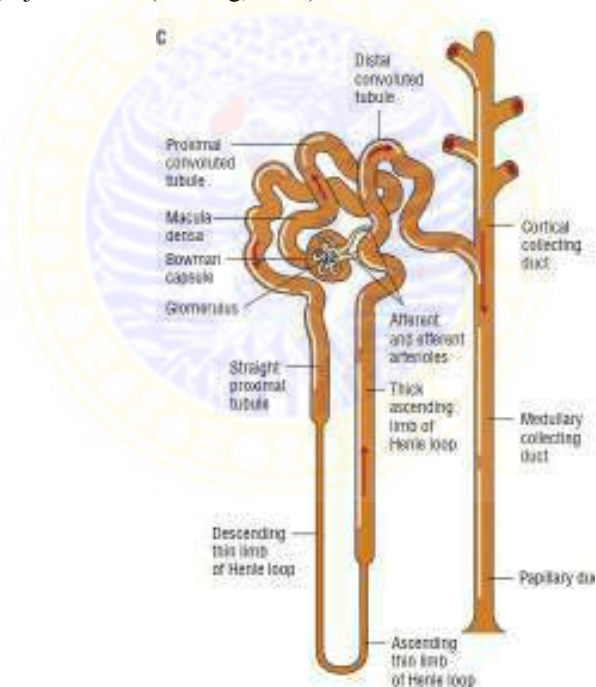
## **2.6. Tinjauan tentang Ginjal**

### **2.6.1. Anatomi Fisiologi Ginjal**

Ginjal merupakan organ sepasang yang terletak di daerah retroperitoneal. Setiap ginjal pada orang dewasa memiliki berat sekitar 150 g dengan ukuran kepalan tangan seseorang (Guyton *et. al.*, 1997). Darah disaring di dalam ginjal, menyaring dan membuang urea dan nitrogen yang mengandung senyawa dan mengatur elektrolit ekstraseluler dan volume intravaskular (McGraw, 2006). Ginjal dibagi dua bagian dari atas sampai bawah, dua daerah pertama yang dapat digambarkan yaitu korteks di bagian luar dan medula di bagian dalam (Guyton *et al.*, 1997). Medula ginjal dibagi

menjadi beberapa massa jaringan yang berbentuk kerucut disebut piramida ginjal (Kuehnel, 2003).

Masing-masing ginjal terdiri dari beberapa nefron. Setiap nefron terdiri dari dua komponen utama: (1) Glomerulus (kapiler glomerulus) dan (2) Tubulus, dimana cairan hasil filtrasi diubah menjadi urin dalam perjalanannya menuju pelvis ginjal. Setiap ginjal manusia memiliki sekitar 1,3 juta nefron (Ganong, 2010).



**Gambar 2.6.** Nefron, unit fungsional dari ginjal (Dipiroet.al, 2008)

### 2.6.2. Fungsi Ginjal

Ginjal memiliki beberapa fungsi penting diantaranya sebagai berikut:

1. Pengaturan keseimbangan cairan dan elektrolit

Asupan air dan banyak elektrolit terutama ditentukan oleh kebiasaan makan dan minum seseorang, sehingga mengharuskan ginjal untuk menentukan kecepatan ekskresinya sesuai dengan asupan berbagai macam zat.

2. Ekskresi hasil buangan metabolik dan bahan kimia asing

Ginjal merupakan organ utama untuk membuang produk sisa metabolisme yang tidak diperlukan lagi oleh tubuh. Ginjal juga membuang banyak toksin dan zat asing lainnya yang diproduksi oleh tubuh atau pencernaan, seperti pestisida, obat-obatan, dan makanan tambahan.

3. Pengaturan tekanan arteri

Ginjal berperan penting dalam mengukur tekanan arteri jangka panjang dengan mengekskresi sejumlah natrium dan air. Selain itu, ginjal ikut mengatur tekanan arteri jangka pendek dengan menyekresi faktor atau zat vasoaktif, seperti renin,

yang menyebabkan pembentukan produk vasoaktif (misalnya angiotensin II).

4. Pengaturan keseimbangan asam basa

Ginjal turut mengatur asam basa, bersama dengan sistem napas paru dan cairan tubuh, dengan mengekskresi asam dan mengatur penyimpanan cairan tubuh. Ginjal merupakan satu-satunya organ untuk membuang tipe-tipe asam tertentu dari tubuh yang dihasilkan oleh metabolisme protein, seperti asam sulfat atau fosfat.

5. Pengaturan produksi eritrosit

Ginjal menyekresikan eritropoietin, yang merangsang pembentukan sel darah merah. Salah satu rangsangan yang penting untuk sekresi eritropoietin oleh ginjal ialah hipoksia. Pada manusia normal, ginjal menghasilkan hampir semua eritropoietin yang disekresi ke dalam sirkulasi. Pada orang dengan penyakit ginjal berat atau yang ginjalnya telah diangkat dan dilakukan hemodialisis, timbul anemia berat sebagai hasil dari penurunan produksi eritropoietin.

6. Pengaturan produksi 1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub>

1,25-dihidroksi vitamin D<sub>3</sub> merupakan bentuk aktif dari vitamin D yang dihasilkan di ginjal,

vitamin D mempunyai peranan penting dalam pengaturan kalsium dan fosfat dalam tubuh.

7. Sintesa glukosa (glukoneogenesis)

Ginjal sebagai tempat mensintesa glukosa dari asam amino dan prekursor lainnya selama puasa (Guyton *et al*, 1997).

### 2.6.3. Deteksi Kerusakan Ginjal

Pemeriksaan fungsi ginjal dapat dilakukan melalui beberapa cara:

1. Analisis Urin

a. Proteinuria

Pada setiap individu yang sehat, protein diekskresikan antara 30 dan 150 mg/hari dari total protein dengan jumlah albumin 30 mg/hari. Adanya protein pada urin dengan tiga kali pemeriksaan dalam periode 3 sampai 6 bulan, merupakan penanda utama ginjal mengalami kerusakan.

b. Glikosuria

Glukosa dalam filtrat glomerulus seluruhnya diserap kembali oleh tubulus, dengan jumlah glukosa yang diserap kembali tidak melebihi *maksimum transport* ( $T_m$ ). Efek osmotik dari glikosuria menyebabkan terganggunya reabsorpsi



NaCl dan H<sub>2</sub>O tubulus proksimal dan *loop of Henle* (Faizi, 2005). Sehingga, glikosuria tanpa hiperglikemia menunjukkan gangguan fungsi tubulus (Lu, 1995).

c. Volume Urin dan Osmolaritas

Tubulus menyerap kembali glukosa yang terdapat pada filtrat glomerulus, dengan jumlah glukosa yang diserap kembali tidak melebihi *maksimum transport* (T<sub>m</sub>). Terjadinya glikosuria tanpa hiperglikemia menunjukkan gangguan fungsi tubulus.

d. Kapasitas Pengasaman

Kapasitas pengasaman dapat dilihat dari pH urin asam yang dapat dititrasi, dan NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Kapasitas ini akan berkurang dengan adanya gangguan fungsi tubulus distal.

e. Enzim

Enzim maltase dan trehalase dalam urin dapat menunjukkan kerusakan pada tubulus proksimal. Pada umumnya, enzim dalam urin berperan pada keadaan nefrotoksik akut (Lu, 1995).

## 2. Analisis Darah

### a. Nitrogen Urea Darah (BUN)

Nitrogen urea darah diperoleh dari metabolisme protein normal dan diekskresi melalui urin. Biasanya BUN yang meningkat menunjukkan kerusakan glomerulus. Namun kadar BUN juga dapat dipengaruhi oleh kurangnya zat makanan dan hepatotoksisitas yang merupakan efek umum beberapa toksikan (Lu, 1995).

### b. Kreatinin

Konsentrasi kreatinin dalam serum adalah suatu metabolit kreatin dan diekskresi seluruhnya dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Kadar kreatinin dalam darah dan jumlahnya dalam urin dapat digunakan dalam memperkirakan laju filtrasi glomerulus. Pada kondisi normal, rentang konsentrasi serum kreatinin 0,5 sampai 1,5 mg / dL untuk pria dan wanita. Dengan demikian, meningkatnya kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal (Dipiro, 2008).

## 3. Uji Khusus

### a. Laju Filtrasi Glomerulus (GFR)

Laju filtrasi glomerulus dapat ditentukan lebih tepat dengan clearance inulin, yaitu

polisakarida. Polisakarida berdifusi ke filtrat glomerulus dan tidak diserap kembali oleh tubulus.

b. Klirens Ginjal

Bersihan (*clearance*) ginjal adalah volume plasma yang dibersihkan seluruhnya dari suatu zat dalam satuan unit waktu. Bersihan asam *p*-aminohipurat (PAH) pada ginjal melebihi bersihan inulin pada ginjal karena PAH bukan hanya disaring oleh glomerulus tetapi juga diekskresi oleh tubulus. Berkurangnya pembuangan PAH tanpa disertai penurunan GFR menunjukkan gangguan fungsi tubulus.

c. Uji Ekskresi PSP

Laju ekskresi phenosulfonphtalein (PSP) berhubungan dengan aliran darah pada ginjal. Karenanya, laju ekskresi ini sering digunakan untuk menaksirkan fungsi ginjal. Namun, menurunnya laju ekskresi juga dapat disebabkan oleh penyakit kardiovaskular.

4. Pemeriksaan Morfologi

a. Pemeriksaan Makroskopik

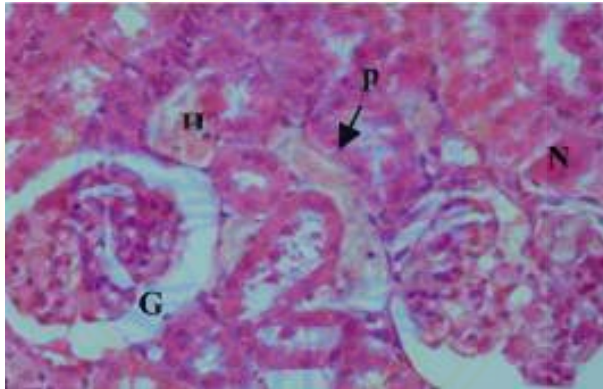
Perubahan berat organ ginjal menunjukkan lesi pada ginjal.

b. Mikroskop Cahaya

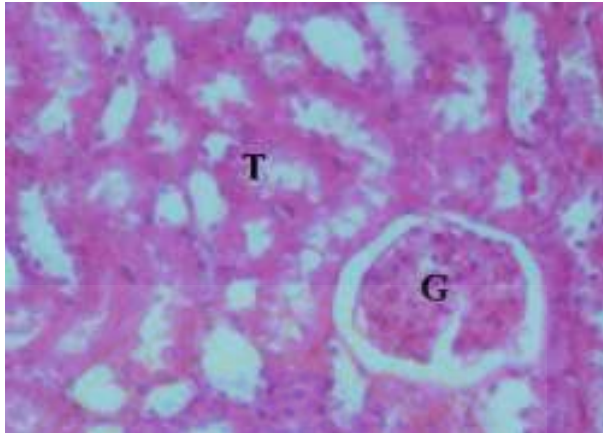
Pemeriksaan histopatologik dapat mengungkapkan tempat, luas, dan sifat morfologik lesi ginjal.

c. Mikroskop Elektron

Prosedur ini berguna untuk menilai perubahan ultrastruktural dalam sel (Lu, 1995).



**Gambar 2.7.** Gambaran histopatologi ginjal tikus yang mengalami nekrosis (G), piknosis (p), dan kongesti (H) (El-Maghraby *et al*, 2010).



**Gambar 2.8.** Gambaran histologi normal ginjal tikus dengan kondisi normal. Tubulus (T) dan Glomerulus (G) (El-Maghraby *et.al*, 2010)

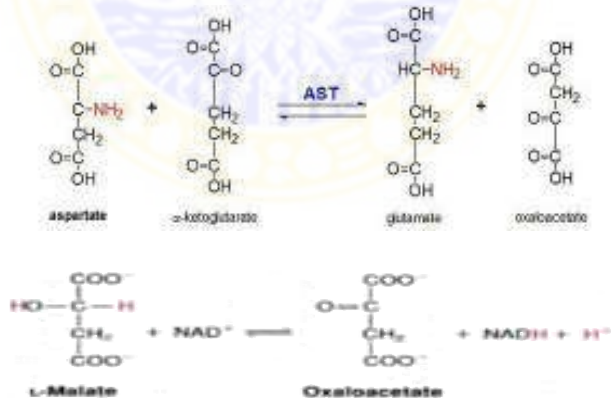
## 2.7. Tinjauan tentang Enzim GOT dan GPT

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

Enzim Glutamic Oxaloacetic Transminase (GOT) dan serum Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) merupakan enzim yang banyak ditemukan pada liver, serta sel darah merah, sel jantung, jaringan otot, dan organ lainnya seperti pankreas dan ginjal (Huang, 2006). Pada jaringan yang mengalami kerusakan akut, kadar serum akan meningkat.

Kadar yang meningkat terdapat pada hepatoseluler nekrosis atau infark myokard (McPhee et. al., 2005).

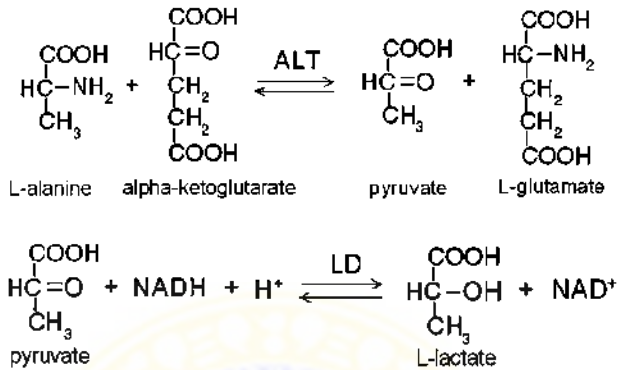
Prinsip reaksi penentuan kadar enzim GOT adalah Glutamat Oksaloasetat Transaminase mengkatalisis reaksi antara asam  $\alpha$ -ketoglutarat dengan asam L-aspartat menghasilkan suatu asam oksaloasetat dan asam L-glutamat. Asam oksaloasetat yang terbentuk, dengan adanya MDH, akan direduksi menjadi asam malat, bersamaan dengan itu NADH menjadi  $\text{NAD}^+$ . NADH dianalisis pada panjang gelombang 340 nm. Kecepatan penurunan absorpsi pada panjang gelombang tersebut sebanding dengan aktivitas SGOT. Persamaan reaksi yang digunakan untuk menentukan aktivitas enzim GOT ditunjukkan pada gambar (Amadeo, 1987).



**Gambar 2.9.** Reaksi penentuan aktivitas enzim GOT

Enzim Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) banyak terdapat dalam sel-sel jaringan tubuh dan sumber utama adalah sel-sel hati, sedangkan dalam jantung dan otot-otot skelet lebih minim jika dibandingkan dengan GOT. Kadar dalam serum meningkat terutama pada kerusakan dalam hati jika dibandingkan dengan GOT (Hadi, 2002).

Prinsip reaksi penentuan kadar enzim GPT adalah Glutamat Piruvat Transaminase mengkatalisis reaksi antara  $\alpha$ -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 itu NADH menjadi  $\text{NAD}^+$ . NADH dianalisis pada panjang gelombang 340 nm. Kecepatan penurunan absorpsi pada panjang gelombang tersebut sebanding dengan aktivitas SGPT. Persamaan reaksi yang digunakan untuk menentukan aktivitas enzim GPT ditunjukkan pada gambar (Amadeo, 1987).



**Gambar 2.10.** Reaksi penentuan aktivitas enzim GPT

Keterangan gambar: AST (alanine aminotransferase) atau GPT, LD (laktat dehidrogenase)

Kadar SGOT manusia normal adalah 0-41 IU/L, dan untuk kadar SGPT normal adalah 0-45 IU/L (Murray, 1999). Sedangkan kadar SGOT tikus jantan normal adalah 60-300 IU/L, dan 80-250 IU/L untuk tikus betina. Kadar SGPT tikus jantan normal adalah 25-55 IU/L, dan 25-50 IU/L untuk tikus betina (Hall, 1992).

## 2.8. Tinjauan tentang BUN

Urea merupakan produk akhir dari proses katabolisme asam amino, disintesis oleh hati (ureogenesis) dan 90% dieliminasi melalui urin (bioMerieux®, 2004). Hati mengubah NH<sub>3</sub> yang berasal dari metabolisme protein



menjadi urea yang diekskresi lewat ginjal. Kadar urea-nitrogen darah manusia normal adalah 8-25 mg/dL (Murray, 1999). Sedangkan kadar urea-nitrogen darah tikus normal adalah 5-29 mg/dL (Gad, 2007).

### **2.9. Tinjauan tentang Kreatinin**

Kreatinin merupakan produk dari hasil metabolisme otot. Kreatinin merupakan komponen nonprotein nitrogen yang difiltrasi bebas oleh glomerulus dan tidak direabsorpsi oleh tubulus seperti halnya urea. Kreatinin terbentuk dari kreatin dan kreatinofosfat. Kreatinin terdapat dalam otot, otak, dan darah baik dalam bentuk kreatinofosfat maupun dalam bentuk bebas. Kadar kreatinin manusia normal adalah 0,7-1,5 mg/dL (Murray, 1999). Sedangkan kadar kreatinin tikus normal adalah 0,2-0,8 mg/dL (Gad, 2007).

### **2.10. Tinjauan tentang Total Protein**

Protein plasma, memiliki bentuk grup heterogen yang terdiri dari haloprotein (hanya mengandung asam amino) dan heteroprotein (metaloprotein, lipoprotein, dan glycoprotein). Mereka terlibat dalam penjagaan tekanan onkotik, koagulasi, transport dari substansi-substansi fisiologis (besi, tembaga, bilirubin bebas dan hormon tertentu, dll), imunitas humoral, penghambatan pada protease dalam

sirkulasi plasma, dll. Variasi level total protein merupakan bantuan untuk mengorientasi diagnosis tetapi hanya sebagai tambahan, tes yang lebih spesifik tetap harus dilakukan. Jumlah total protein normal pada tikus adalah 4,70-8,15 g/L (Gad, 2007).

## **2.11. Tinjauan tentang Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)**

### **2.11.1. Klasifikasi**



Dunia	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Subklas	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Sub Famili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>

(Anonim, 2008)



**Gambar 2.11.** Gambar Hewan Coba Tikus

### 2.11.2. Makanan Tikus

Kualitas makanan tikus merupakan faktor penting yang mempengaruhi kemampuan tikus mencapai potensi genetik untuk tumbuh, berkembangbiak, hidup lama atau reaksi setelah pengobatan dan lain-lain. Bahan dasar makanan tikus dapat juga sedikit bervariasi, misalnya protein 20-25% (tetapi hanya 12% jika protein itu lengkap berisi semua 20 asam amino esensial dengan konsentrasi benar); lemak 5% ; pati 45-50%; serat kasar kira-kira 5%; dan abu 4-5%. Makanan tikus harus mengandung vitamin A (4.000 IU/kg); vitamin D (1.000 IU/kg); alfa-tokoferol (30 mg/kg); asam linolenat (3 g/kg); tiamin (4 mg/kg); riboflavin (3 mg/kg); pantotenat (8 mg/kg); vitamin B12 (50 g/kg); biotin (10 g/kg); piridoksin (40-300 g/kg); dan kolin (1.000 mg/kg). Keperluan

mineral dalam makanan tikus yaitu kalsium 0,5%; fosfor 0,4%; magnesium 400 mg/kg; kalium 0,36%; natrium 0,05%; tembaga 5,0 mg/kg; yodium 0,15%; besi 35,0 mg/kg; mangan 50,0 mg/kg; dan seng 12,0 mg/kg.

Tiap hari seekor tikus dewasa makan antara 12 g sampai 20 g makanan. Jika tikus sedang bunting atau menyusui, nafsu makannya akan bertambah (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

### **2.11.3. Pemberian Bahan Uji**

Pemberian bahan uji pada hewan coba harus diupayakan sebaik mungkin agar tidak menimbulkan stres atau nyeri pada hewan. Ada beberapa cara pemberian bahan uji pada hewan coba, yaitu:

1. Suntikan intraperitonium.
2. Suntikan subkutan dan intramuskular.
3. Suntikan intradermal.
4. Pemberian peroral.
5. Suntikan intravena.

(Kusumawati, 2004).

#### **2.11.4. Pengambilan Darah**

Untuk memperoleh darah dalam jumlah besar dan dalam waktu yang singkat dapat digunakan cara intracardial. Akan tetapi teknik ini sulit dilakukan dan membutuhkan seorang operator yang sudah berpengalaman karena cara ini mudah menyebabkan terjadinya kematian. Cara ini sebaiknya dilaksanakan pada hewan yang teranastesi. Jarum ditusukkan melalui dinding dilaksanakan pada hewan yang teranastesi. Jarum ditusukkan melalui dinding abdomen bagian ventral sedikit di sebelah lateral processis xiphoideus. Untuk hewan dewasa, jarum ditusukkan melalui dinding thorax, sedikit lateral daerah palpitasi jantung maksimum. Cara pengambilan darah yang lain dapat dilakukan melalui sinus orbitalis melalui amputasi ujung ekor tikus (Kusumawati, 2004).

#### **2.12. Tinjauan Tentang Fraksi Diterpen Lakton *Andrographis paniculata* Nees.**

Andrografolid merupakan senyawa yang diperoleh dari herba sambiloto dengan pelarut etanol 96% selama 24 jam dengan metode maserasi. Dari hasil maserasi tersebut dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner untuk mendapatkan filtrat berupa ekstrak cair yang dilakukan sebanyak empat kali. Hasil filtrasi tersebut dikumpulkan dan diuapkan menggunakan rotavapor dengan suhu tidak lebih

dari 50°C dan tekanan rendah  $\pm 10\%$  volume awal. Ekstrak etanol diukur sebanyak 100 ml, dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan air sebanyak tiga kali volume ekstrak dan ditambahkan etil asetat sebanyak tiga kali volume ekstrak. Larutan pada corong pisah kemudian dikocok selama  $\pm 5$  menit. Fraksi etil asetat pada bagian atas dikumpulkan, kemudian bagian bawah dikocok lagi menggunakan etil asetat sebanyak 4 kali. Fraksi etil asetat yang terkumpul lalu dipekatkan dengan rotavapor dan didiamkan  $\pm 24$  jam sampai terbentuk kristal. Kristal kemudian dikeringkan dengan Avicel : Cab-O-Sil dengan perbandingan 4 : 1, dan selanjutnya didapatkan fraksi diterpen lakton sebagai hasil akhir yang digunakan sebagai bahan uji (Endarini, 2013).

Andrografolid dapat ditemukan pada semua bagian tumbuhan sambiloto, khususnya pada daun. Andrografolid memiliki rumus molekul  $C_{20}H_{30}O_5$  dengan berat molekul 350,4 dan titik leburnya sebesar 235,3°C. Kristal dari andrografolid yang memiliki kestabilan yang sangat tinggi memiliki sifat sukar larut dalam air, serta larut dalam aseton, kloroform, eter, dan etanol panas. Senyawa andrografolid merupakan senyawa yang memiliki konsentrasi terbesar pada herba sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) sehingga andrografolid digunakan sebagai marker dari *Andrographis paniculata* Nees. (Jayakumar, 2013). Andrografolid diketahui

memiliki aktivitas sebagai antikanker dengan aktivitas inhibitor enzim DNA topoisomerase II yang bekerja dengan memperlambat proses ikatan antar enzim dengan DNA sel kanker, dan terbentuk Protein Linked DNA Breaks (PLDB) sehingga terjadi fragmentasi atau kerusakan DNA sel kanker yang berpengaruh terhadap proses di dalam sel khususnya proses replikasi sel yang diakhiri dengan kematian sel kanker (Sukardiman *et al*, 2005).

