

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. UJI TOKSISITAS

Toksisitas didefinisikan sebagai segala hal yang memiliki efek berbahaya dari zat kimia atau obat pada organisme target. Uji toksisitas terdiri atas dua jenis, yaitu toksisitas umum (akut, subakut/subkronis, kronis) dan toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik dan karsinogenik).  
(6)

##### 1. Uji Toksisitas Akut (6)

Tujuan uji toksisitas akut adalah untuk menetapkan potensi toksisitas akut ( $LD_{50}$ ), menilai gejala klinis, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian.

Untuk uji toksisitas akut perlu dilakukan pada sekurang-kurangnya satu spesies hewan coba, biasanya spesies pengerat yaitu mencit atau tikus, dewasa muda dan mencakup kedua jenis kelamin.

Perlakuan berupa pemberian obat pada masing-masing hewan coba dengan dosis tunggal. Terkait dengan upaya mendapatkan dosis letal pada uji  $LD_{50}$ , pemberian obat dilakukan dengan besar dosis bertingkat dengan kalipatan tetap. Penentuan besarnya dosis uji pada

tahap awal bertolak dengan berpedoman ekuipotensi dosis empirik sebagai dosis terendah, dan ditingkatkan berpedoman ekuipotensi dosis empirik sebagai dosis terendah, dan ditingkatkan berdasarkan faktor logaritmik atau dengan rasio tertentu sampai batas yang masih dimungkinkan untuk diberikan. Cara pemberian diupayakan disesuaikan dengan cara penggunaannya.

Pada uji toksisitas akut ditentukan  $LD_{50}$ , yaitu besar dosis yang menyebabkan kematian (dosis letal) pada 50% hewan coba, bila tidak dapat ditentukan  $LD_{50}$  maka diberikan dosis lebih tinggi dan sampai dosis tertinggi yaitu dosis maksimal yang masih mungkin diberikan pada hewan coba. Volume obat untuk pemberian oral tidak boleh lebih dari 2-3% berat badan hewan coba.

Setelah mendapatkan perlakuan berupa pemberian obat dosis tunggal maka dilakukan pengamatan secara intensif, cermat, dengan frekuensi dan selama jangka waktu tertentu yaitu 7-14 hari, bahkan dapat lebih lama antara lain dalam kaitan dengan pemulihan gejala toksik.

Disamping terjadinya kematian hewan uji, dalam pengamatan perlu diperhatikan timbulnya gejala-gejala, terutama yang terkait dengan fungsi organ tubuh yang tergolong cukup vital antara lain hati, ginjal dan hemopoetik. Setiap hewan uji yang mati perlu diautopsi, untuk pemeriksaan organ tubuh secara makroskopik maupun mikroskopik, untuk mengungkapkan kerusakan struktur organ yang

dapat menjelaskan gejala gangguan fungsinya. Dengan autopsi diharapkan terungkap penyebab terjadinya kematian.

Hewan uji yang bertahan hidup sampai batas akhir masa pengamatan, perlu diautopsi. Hewan coba yang menunjukkan gejala efek toksik namun tidak dikorbankan, bermanfaat untuk diamati terjadi atau tidaknya efek pemulihan.

Berdasarkan hal itu kriteria pengamatan meliputi pengamatan gejala klinis, berat badan, persentase kematian, patologi organ (makroskopis dan mikroskopis). Hasil pengamatan berupa fungsi hati dan ginjal dianalisis secara statistik dengan metode yang sesuai.

Nilai LD<sub>50</sub> berguna dalam beberapa hal (7):

- a. Klasifikasi zat kimia berdasarkan toksisitas relatif. Klasifikasi umum sebagai berikut:

| <u>Kategori</u> | <u>LD<sub>50</sub></u> |
|-----------------|------------------------|
| Super toksik    | 5 mg/kg atau kurang    |
| Sangat toksik   | 5-50 mg/kg             |
| Toksik          | 50-500 mg/kg           |
| Cukup toksik    | 0,5-5 g/kg             |
| Sedikit toksik  | 5-15 g/kg              |
| Tidak toksik    | > 15 g/kg              |

- b. Pertimbangan akibat bahaya dari *overdosis*.
- c. Perencanaan studi toksisitas jangka pendek pada binatang.
- d. Menyediakan informasi tentang:

- 1) Mekanisme keracunan
  - 2) Pengaruh terhadap umur, seks, inang lain, dan faktor lingkungan.
  - 3) Tentang respon yang berbeda-beda di antara spesies dan galur
- e. Menyediakan informasi tentang *reaktivitas* populasi hewan-hewan tertentu.
- f. Menyumbang informasi yang diperlukan secara menyeluruh dalam percobaan-percobaan obat penyembuh bagi manusia.
- g. Kontrol kualitas  
Mendeteksi kemurnian dari produk racun dan perubahan fisik bahan-bahan kimia yang mempengaruhi keberadaan hidup.

## **B. PENENTUAN LD<sub>50</sub>**

Tujuan dilakukan penentuan LD<sub>50</sub> adalah untuk mencari besarnya dosis tunggal yang membunuh 50% dari sekelompok hewan coba dengan sekali pemberian bahan uji (1). Hal ini dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu:

### **1. Metode Weil (7)**

Rumus :  $\text{Log } m = \text{log } D + d (f+1)$

Dimana :

m : Nilai LD<sub>50</sub>

D : Dosis terkecil yang digunakan

d : Log dari kelipatan dosis (Log R)

f : Suatu faktor dalam tabel Weil

## 2. Metode Grafik Probit (8)

Hewan uji diberi dosis-dosis yang menurun secara ekponensial sehingga didapatkan data presentasi kematian berupa garis linier.

Taraf kepercayaan dapat diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\Delta S = LD_{50} \pm S_x$$

$$S_x = \frac{25}{(2N)^{12}}$$

$$S = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2}$$

Dimana :

$\Delta S$  : Batas kepercayaan  $LD_{50}$

$LD_{50}$  : Dosis yang menyebabkan kematian

$S_x$  : Simpangan baku rata-rata  $LD_{50}$

$N$  : Jumlah hewan keseluruhan dalam kelompok hewan uji dengan presentase kematian antara 75% - 93%.

$S$  : Simpangan baku  $LD_{50}$

$LD_{84}$  : Dosis yang menyebabkan kematian lebih dari 84% hewan uji

$LD_{16}$  : Dosis yang menyebabkan kematian lebih dari 16% hewan uji

### 3. Metode Farmakope Indonesia III (9)

Rumus :  $m = a - b (\sum P_i - 0,5)$

Dimana :

m : Log LD<sub>50</sub>

a : Logaritma dosis terendah yang dapat menyebabkan kematian dalam suatu kelompok.

b : Selisih logaritma dosis yang berurutan

P<sub>i</sub> : Jumlah hewan uji yang mati setelah menerima dosis i, dibagi dengan jumlah seluruh hewan uji yang menerima dosis.

Syarat yang harus dipenuhi dalam metode ini adalah perlakuan menggunakan seri dosis dengan pengenceran berketepatan tetap. Jumlah hewan percobaan tiap kelompok harus sama dan dosis diatur sedemikian rupa sehingga memberikan efek kematian 0% - 100%.

### C. TANAMAN SUKUN

Tanaman ini tumbuh didaerah panas dan lembab di kawaan Asia Tenggara dan Kepulauan Pasifik. Sukun atau *Artocarpus altilis* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Bangsa : Urticales

Suku : Moraceae

Marga : Artocarpus

Jenis : *Artocarpus communis* (Parkinson) Fosberg (2).

Di pulau Jawa, Aceh dan Bali buah ini dikenal dengan nama sukun, di daerah Sumatra Utara dikenal dengan nama Hatopul, di Pulau Madura dikenal dengan nama sakon dan di Pulau Flores dikenal dengan nama karara bima (10).

Daun sukun adalah daun yang tebal, berwarna hijau tua dan agak licin, berbentuk oval dan sangat bervariasi dalam bentuk dan ukuran walaupun dalam satu pohon (2).

Penggunaan daun sukun untuk pengobatan dan menjaga kesehatan sudah dilakukan sejak lama oleh masyarakat. Di Hawaii, daun sukun digunakan sebagai penolak nyamuk (2).

Penelitian untuk mengetahui manfaat ekstrak daun sukun menunjukkan hasil yang menjanjikan. Di sebelah barat India, daun yang sudah tua digunakan sebagai teh dan digunakan untuk menurunkan tekanan darah, juga untuk mengontrol diabetes. Asam organik pada ekstrak daun ( $\gamma$ -aminobutyric acid) diketahui sebagai bahan aktifnya, selain itu di Taiwan daunnya digunakan untuk mengobati penyakit pada hati dan juga untuk menyembuhkan demam (2).

## D. HATI

Kelenjar terbesar dalam tubuh merupakan hati, rata-rata sekitar 1.500 gram atau 2,5 % berat badan pada orang dewasa normal. Hati memiliki dua lobus utama, kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi menjadi segmen anterior dan superior oleh fisura segmentalis kanan yang tidak terlihat dari luar. Lobus kiri dibagi menjadi segmen medial dan lateral oleh ligmentatum falsiforme yang dapat dilihat dari luar (11).

Hati memiliki fungsi yang sangat penting dan berperan hampir dalam setiap fungsi metabolik tubuh, diantaranya:

1. Pembentukan dan ekskresi empedu

Pembentukan dan ekskresi empedu meliputi metabolisme garam empedu dan metabolisme pigmen empedu. Garam empedu penting untuk pencernaan dan absorpsi lemak serta vitamin larut lemak di dalam usus (3).

2. Metabolisme karbohidrat

Hal ini mencakup glikogenesis, glikogenolisis dan glukoneogenesis. Hati berperan penting dalam mempertahankan kadar glukosa darah normal dan menyediakan energi untuk tubuh. Karbohidrat disimpan dalam hati dalam bentuk glikogen (3,14).

3. Metabolisme protein

Hal ini mencakup sintesis protein, pembentukan urea dan produk khusus, serta penyimpanan protein. Protein serum yang disintesis oleh

hati adalah albumin serta globulin  $\alpha$  dan  $\beta$  ( $\gamma$  globulin tidak). Faktor pembentukan darah yang disintesis oleh hati adalah fibrinogen, protrombin, dan faktor V, VII, IX, dan X. Vitamin K merupakan kofaktor yang penting dalam sintesis semua faktor ini kecuali faktor V (3).

#### 4. Metabolisme lemak

Hal ini mencakup ketogenesis, biosintesis kolesterol, dan penimbunan lemak. Hidrolisis trigliserida, kolesterol, fosfolipid, dan lipoprotein (diabsorpsi melalui usus) menjadi asam lemak dan gliserol (12).

#### 5. Penimbunan vitamin dan mineral

Hati berperan dalam penyimpanan zat-zat seperti vitamin larut air; B12, B3, B5, B6, asam folat, vitamin sukar larut air A, D, E, K juga tembaga dan besi (3).

#### 6. Metabolisme steroid

Hati menginaktifkan dan mensekresi aldosteron, glukokortikoid, esterogen, progesteron, dan testosteron (3).

#### 7. Detoksifikasi

Hati bertanggung jawab terhadap biotransformasi zat-zat berbahaya, misalnya obat, menjadi zat-zat yang tidak berbahaya yang kemudian diekskresikan oleh ginjal (3).

#### 8. Gudang darah dan filtrasi

Sinusoid hati merupakan depot darah yang mengalir kembali dari vena kava dan kerja fagositik dari sel kupffer membuang bakteri dan debris dari sel darah (3).

## 1. Kerusakan Pada Hati (11)

### a. Ikterus

Penimbunan pigmen empedu dalam tubuh menyebabkan warna kuning pada jaringan yang dikenal sebagai ikterus. Hal ini biasanya dapat dideteksi pada sklera (bagian mata yang putih), kulit atau kemih yang menjadi gelap bila bilirubin serum mencapai 2 sampai 3 mg/100 ml. Bilirubin serum normal adalah 0,2 sampai 0,9 mg/100 ml. Jaringan permukaan yang kaya elastin, seperti sklera dan permukaan bawah kulit biasanya pertama kali menjadi kuning.

### b. Hepatitis Virus

Hepatitis virus akut merupakan penyakit infeksi yang penyebarannya luas dalam tubuh, walaupun efek yang menyolok terjadi pada hati. Telah ditemukan lima kategori virus yang menjadi agen penyebab:

- 1) Virus hepatitis A (HAV)
- 2) Virus hepatitis B (HBV)
- 3) Virus hepatitis C (HCV)
- 4) Virus hepatitis D (HDV)
- 5) Virus hepatitis E (HEV)

Infeksi virus hepatitis dapat bervariasi mulai dari gagal hati berat sampai hepatitis anikterik subklinis, yang terakhir ini dapat ditemui umumnya pada infeksi HAV. Infeksi HBV biasanya lebih

berat dari HAV, insiden nekrosis masif dan payah hati berat lebih sering terjadi.

Kelainan biokimia yang paling dini adalah peningkatan kadar AST dan ALT, yang mendahului awitan ikterus seminggu atau dua minggu. Pemeriksaan kemih pada saat awitan akan mengungkapkan adanya bilirubin dan kelainan urobilinogen.

Fase ikterik dikaitkan dengan hiperbilirubinemia (baik fraksi terkonjugasi dan tak terkonjugasi) yang biasanya kurang dari 10 mg/100 ml. Kadar fosfatase alkali serum biasanya normal atau sedikit meningkat.

#### **c. Sirosis Hati**

Sirosis adalah penyakit hati kronik yang dicirikan oleh distorsi arsitektur hati yang normal oleh lembar-lembar jaringan ikat dan nodula-nodula regenerasi sel hati, yang tidak berkaitan dengan vaskular normal. Nodula-nodula regenerasi ini dapat kecil (mikronodular) atau besar (makronodular). Sirosis dapat mengganggu sirkulasi darah intrahepatik, dan pada kasus yang sangat lanjut, menyebabkan kegagalan fungsi hati secara bertingkat.

#### **d. Kolelitiasis dan Kolesistitis**

Dua penyakit saluran empedu yang paling mencolok dipandang dari frekuensinya adalah pembentukan batu (kolelitiasis) dan radang kronik penyerta (kolesistitis). Walaupun masing-masing

keadaan ini dapat timbul secara sendiri-sendiri, keduanya sering timbul bersamaan. Batu empedu pada hakikatnya merupakan endapan satu atau lebih komponen empedu, kolesterol, bilirubin, garam empedu, kalsium dan protein.

## **E. ENZIM TRANSAMINASE**

Kelompok enzim transferase yang berperan penting dalam metabolisme asam amino adalah transaminase. Enzim ini berperan dalam pembentukan dan pemecahan asam amino dengan cara memindahkan gugus amino dari asam  $\alpha$  amino ke asam  $\alpha$  keto. Fungsi ini penting untuk pembentukan asam amino yang dibutuhkan untuk menyusun protein (13).

Aspartat amino transferase (AST) Atau serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), alanin amino transferase (ALT) atau serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT), dan laktat dehidrogenase (LDH) merupakan enzim-enzim intra seluler yang terutama berada di jantung, hati dan jaringan skelet, terlepas dari jaringan yang rusak (seperti nekrosis atau terjadinya perubahan permeabilitas sel) meningkat pada kerusakan sel hati pada keadaan-keadaan lain terutama infark miokardium (11).

Dari kedua enzim transaminase tersebut yaitu AST dan ALT, ALT merupakan enzim yang spesifik untuk melihat kondisi normal hati,

sehingga terjadinya peningkatan kadar enzim ALT di darah merupakan parameter adanya kerusakan hati (4).

Aspartat transaminase (AST) adalah enzim pertama yang membuktikan bahwa peningkatan aktivitas enzim intrasel dalam darah menunjukkan adanya kerusakan pada jaringan asal sumber enzim tersebut. Hal ini dilaporkan oleh La Deu Wrolewski, dan Karmen pada tahun 1954. mereka memperlihatkan bahwa aktivitas AST dalam serum meningkat tajam pada penderita infark otot jantung. AST terdapat pada semua organ, terutama di otot jantung, hati dan otot rangka, namun, aktivitas spesifik tertinggi enzim AST ditemukan di jantung (14,15).

AST mempunyai dua isoenzim, yaitu isoenzim yang berasal dari sitoplasma serta berasal dari mitokondria. Enzim yang biasa terdapat dalam plasma dan meningkat aktivitasnya pada kerusakan ringan jaringan otot ialah isoenzim yang berasal dari sitoplasma. Isoenzim mitokondria baru akan keluar ketika terjadi kerusakan otot jantung yang lebih mendalam (14).

AST memerlukan piridoksal fosfat sebagai koenzim. Konsentrasi AST dalam darah orang sehat juga berada dalam rentangan yang cukup lebar, yaitu 5-40 unit/ml (14,11).

Prinsip pengukuran aktivitas AST adalah katalisasi yang dilakukan AST untuk mentransfer gugus L-aspartat kepada asam  $\alpha$  ketoglutarat. sehingga terbentuk senyawa oksaloasetat dan glutamat (gambar 6). Oksaloasetat merupakan senyawa yang tidak stabil,

oksaloasetat akan melepaskan gugus karboksilat sehingga membentuk senyawa piruvat yang direaksikan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin membentuk 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazin yang berwarna coklat kuning dalam larutan alkali (Gambar 7). Warna yang terbentuk serapannya diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 505 nm (16).

Alanin amino transferase (ALT) ditemukan paling banyak di hati dan ditemukan hanya di sitosol. Peningkatan ALT diduga akibat kebocoran dari sel yang rusak atau nekrosis sel. ALT menunjukkan perkembangan awal kerusakan hati pada hampir semua penyakit hati dan meningkat 2-6 minggu dengan adanya penyakit. Konsentrasi tertinggi (lebih dari 1000 IU) terdapat pada kondisi akut seperti hepatitis akibat virus, nekrosis hati akibat diinduksi obat, racun maupun iskemia hepatic (12).

Dalam keadaan normal, terdapat keseimbangan antara pembentukan enzim dengan penghancurannya. Apabila enzim yang seharusnya bekerja intraseluler berada dalam darah dengan konsentrasi tinggi maka dapat dijadikan indikator adanya kerusakan pada jaringan tempat enzim tersebut berasal (12,17).

Prinsip pengukuran aktivitas ALT adalah katalisasi yang dilakukan oleh enzim alanin aminotransferase pada proses pemindahan gugus amino dari alanin ke asam alfa ketoglutarat, sehingga terbentuk senyawa piruvat dan glutamat, untuk lebih jelasnya dapat dilihat Gambar 4(16).

Piruvat yang terbentuk direaksikan dengan 2,4 dinitrofenil hidrazin membentuk 1-piruvat-2,4-dinitrofenilhidrazin yang berwarna coklat kuning dalam larutan alkali (Gambar 5). Warna yang terbentuk serapannya diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 505 nm (16).

ALT bekerja dalam proses pemindahan gugus asam amino dari alanin ke asam  $\alpha$  keto glutarat membentuk asam piruvat dan asam glutamat (Gambar 4). Piruvat yang terbentuk masuk ke dalam siklus asam sitrat untuk pembentukan energi secara biokimia. Sedangkan glutamat akan mengalami deaminasi amonia (digunakan dalam siklus urea) dan untuk meregenerasi asam  $\alpha$  keto glutarat. Konsentrasi ALT dalam darah orang sehat berada dalam rentang 5-35 unit/ml (11,12).

## **F. GINJAL**

Organ yang berbentuk seperti kacang merah atau ginjal, terletak di kedua sisi columna vertebralis. Pada orang dewasa ginjal panjangnya antara 12-13 cm, lebarnya 6 cm dan beratnya antara 120-150 gram (18).

Potongan longitudinal ginjal memperlihatkan dua daerah yang berbeda yaitu korteks di bagian luar dan medula di bagian dalam. Medula terbagi-bagi mejadi baji segitiga yang di sebut piramid. Piramid-piramid tersebut diselingi oleh bagian korteks yang disebut kolom Bertini. Piramid-

piramid tersebut tampak bercorak karena tersusun dari segmen-segmen tubulus dan duktus pengumpul nefron (18).

Berikut ini adalah beberapa fungsi spesifik yang dilakukan oleh ginjal (yang sebagian besar ditujukan untuk mempertahankan kesetabilan lingkungan cairan internal):

1. Mempertahankan keseimbangan  $H_2O$  dalam tubuh.
2. Mengatur jumlah dan konsentrasi sebagian besar ion CES, termasuk  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ,  $K^+$ ,  $HCO_3^-$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $SO_4^{--}$ ,  $PO_4$ , dan  $H^+$ .
3. Memelihara volume plasma yang sesuai, sehingga sangat berperan dalam pengaturan jangka panjang tekanan darah arteri. Fungsi ini dilaksanakan melalui peran ginjal sebagai pengatur keseimbangan kadar garam dan air.
4. Membantu memelihara keseimbangan asam basa tubuh dengan menyesuaikan pengeluaran  $H^+$  dan  $HCO_3^-$  melalui urin.
5. Memelihara osmolaritas (konsentrasi zat terlarut) berbagai cairan tubuh, terutama melalui pengaturan keseimbangan air.
6. Mengekskresikan (eliminasi) produk-produk sisa (buangan) dari metabolisme tubuh, misalnya urea, asam urat dan kreatinin. Jika dibiarkan menumpuk, zat-zat sisa tersebut bersifat toksik, terutama bagi otak.
7. Mengekskresikan banyak senyawa asing, misalnya obat, zat penambah pada makanan, pestisida, dan bahan-bahan eksogen non nutrisi lainnya yang berhasil masuk ke dalam tubuh.

8. Mensekresikan eritropoietin, suatu hormon yang dapat merangsang pembentukan sel darah merah.
9. Mensekresikan renin, suatu hormon enzimatis yang memicu reaksi berantai yang penting dalam proses konversi garam oleh ginjal (3).

### **1. Kerusakan Ginjal Akut (18)**

Terdapat dua sebab utama gagal ginjal intrinsik akut yaitu iskemia ginjal (hipoperfusi ginjal yang berkepanjangan karena keadaan-keadaan pra renal) dan cedera nefrotoksik. Diantara kerusakan ginjal akut adalah:

#### **a. Nekrosis Tubular Akut**

Istilah nekrosis tubular akut biasanya digunakan baik untuk lesi nefrotoksik maupun iskemik pada ginjal, sekalipun tidak mencerminkan sifat serta beratnya perubahan pada tubulus. Dua jenis lesi histologik yang sering ditemukan pada nekrosis tubular akut yang pertama adalah nekrosis epitel tubulus sedangkan membran basalis tetap utuh, biasanya akibat menelan bahan kimia nefrotoksik. Yang kedua adalah nekrosis epitel tubulus dan membran basalis yang sering menyertai iskemia ginjal.

Epitel tubulus proksimal dapat mengalami nekrosis tetapi dapat sembuh sempurna dalam tiga sampai empat minggu.

## **b. Gagal Ginjal Akut**

Perjalanan klinis gagal ginjal akut biasanya dibagi menjadi tiga stadium yaitu oligouria, diuresis dan pemulihan. Oligouria biasanya muncul dalam waktu 24 sampai 48 jam sesudah trauma. Meskipun gejala biasanya tidak timbul sampai beberapa hari sesudah kontak dengan bahan kimia yang nefrotoksik. Oligouria biasanya disertai azotemia.

Pada nekrosis tubular akut, periode oligouria dapat berlangsung kurang dari satu hari atau dapat selama enam minggu, angka rata-rata adalah dari tujuh sampai sepuluh hari. Selama fase oligouria, biasanya peningkatan kadar *blood urea nitrogen* (BUN) sekitar 25 sampai 30 mg/dl setiap hari, dan kreatinin meningkat 2,5 mg/dl setiap hari

## **G. KREATININ**

Zat ini terbentuk di dalam otot dari kreatinin fosfat melalui proses dehidrasi nonenzimatik yang irreversibel dan elepasan fosfat (13). Suatu produk penguraian otot yang diekskresikan oleh ginjal melalui kombinasi filtrasi dan ekskresi dikenal dengan kreatinin. Konsentrasi kreatinin dalam plasma relatif tetap dari hari ke hari. Konsentrasi tersebut bervariasi sedikit dari sekitar 0,7 mg per 100 ml darah pada seorang

wanita bertubuh kecil, sampai 1,5 mg pada pria berotot kadar yang lebih besar dari nilai tersebut mengisyaratkan adanya penyakit ginjal (4).

Kreatinin plasma merupakan indikator kuat bagi fungsi ginjal, peningkatan kadar dua kali lipat dari kadar plasma normal menunjukkan penurunan fungsi ginjal sebesar 50%. Demikian juga peningkatan kadar kreatinin plasma sebesar tiga kali lipat menunjukkan kerusakan ginjal sebesar 75% (4).

Konsentrasi kreatinin di serum pria lebih tinggi dari wanita, karena kreatinin merupakan refleksi langsung dari massa otot. Kreatinin difiltrasi secara bebas dan tidak di reabsorpsi, tetapi sedikit di sekresi (3). Ekskresi kreatinin di dalam urin 24 jam individu akan lebih kurang konstan sebanding dengan massa ototnya.

Kreatinin sering digunakan dalam tes fungsi ginjal untuk mengukur *glomerulus filtration rate* (GFR). Klirens kreatinin memberi perkiraan yang mendekati klirens inulin dan lebih mudah ditentukan daripada klirens inulin (3). Selain itu, kreatinin tidak dipengaruhi oleh diet protein, derajat hidrasi pasien dan metabolisme protein, sehingga pengukuran fungsi ginjalnya lebih realistis daripada urea. (14) Nilai normal kreatinin pada manusia adalah 0,7 – 1,5 mg/dL (62 – 132  $\mu\text{mol/L}$ ) (5), sedangkan nilai normal kreatinin pada mencit adalah 0,3 – 1,0 mg/dL (19).

Prinsip reaksi pada pengukuran kadar kreatinin yaitu kreatinin akan membentuk senyawa berwarna kuning jingga dalam larutan alkalis pikrat (Gambar 9). Jumlah kreatinin yang di ekskresi menggambarkan

fungsi masa otot dan tidak dipengaruhi oleh makanan, umur, jenis kelamin dan latihan (20,21).

## H. UREA

Produk akhir katabolisme protein dalam tubuh yang merupakan protein nitrogen disebut urea. Ketika asam amino mengalami deaminasi, terbentuk amonia dan asam  $\alpha$  keto. Perkembangan toksisitas amonia pada darah dapat dicegah dengan konversi amonia menjadi urea, konversi tersebut berlangsung di hati.(4)

Konsentrasi urea sewaktu difiltrasi di glomerulus setara dengan konsentrasi pada plasma yang memasuki kapiler tubulus. Urea di filtrasi oleh glomerulus dan direabsorpsi sebagian oleh hati tubulus.(3)

Apabila fungsi ginjal terganggu maka konsentrasi urea dalam plasma meningkat. Peningkatan kadar urea merupakan salah satu yang diidentifikasi pada pasien gagal ginjal berat dengan melakukan pengukuran kadar *blood urea nitrogen* (BUN) (3). Produksi urea meningkat karena asam amino dengan jumlah yang lebih banyak dimetabolime di hati. Hal ini dapat terjadi dengan diet tinggi protein, pemecahan jaringan, atau penurunan sintesa protein. Sebaliknya, produksi urea menurun jika asupan protein berkurang dan menderita penyakit hati akut (4).

Banyak faktor yang mempengaruhi BUN dibandingkan dengan GFR yang relatif konstan, hasil yang diperoleh sebaiknya tidak dijadikan patokan untuk menentukan fungsi ginjal (4). Nilai normal urea pada manusia adalah 8 – 25 mg/dL (2,9 – 8,9 mmol/L) (13). Sedangkan nilai normal urea pada menciit adalah 17 – 28 mg/dL (19).

Pengukuran kadar urea plasma dilakukan dengan menggunakan metode fearon atau non enzimatis. Metode ini lebih sederhana, cukup spesifik dan lebih umum digunakan dibandingkan dengan metode enzimatis. Dalam suasana asam, diasetil monoksim akan terhidrolisis menjadi diasetil dan hidroksil amin. Diasetil ini akan bereaksi dengan urea dan dengan katalisator kation akan membentuk senyawa turunan diazin yang menghasilkan warna dan cahaya yang terserap akan terbaca dalam bentuk serapan pada spektrofotometer pada panjang gelombang 525 nm (22,23). Penambahan tiosemikarbazid dan ferri klorida pada reaksi, akan meningkatkan intensitas warna yang terbentuk dan mengurangi kepekaan senyawa turunan diazin terhadap cahaya. Reaksi pembentukan senyawa diazin berjalan lambat sehingga dibutuhkan pemanasan pada penangas air mendidih untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 8 (21,22,23).