

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. TANAMAN DARUJU (*Acanthus ilicifolius* L.)

2.1.1. Sistematika Tanaman *A. ilicifolius*

Kedudukan tanaman *A. ilicifolius* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Solanales
Famili	: Acanthaceae
Marga	: <i>Acanthus</i>
Jenis	: <i>Acanthus ilicifolius</i> Linn.

(Becker and Van Den Brink, 1963: 555).

Di Indonesia dikenal dengan nama lokal daruju yang diambil dari bahasa Melayu, bahasa Cina dinamakan *Lau Shu Le*. Secara international, orang menamakannya *Sea Holly*.

Batang *A. ilicifolius* tegak seperti perdu, tinggi sampai 2 meter, dikualifikasi, ditanah lumpur, di pesisir dimana terdapat payau, kadang-kadang merupakan suatu lapangan yang besar. Daunnya beringgit bergigi, berduri tempel panjang. Bunganya putih atau biru, dengan daun pelindung kecil, lepas. Buah

berbentuk kotak, mengkilap, panjang hampir empat persegi, biji 4 atau kurang, rata atau bertangkai pendek seperti kutil (Seno, 1997: 96).

2.1.2. Kandungan Kimia *A. ilicifolius*

Huo, *et al.* 2005 menemukan lima senyawa dalam *A. ilicifolius* yaitu luteolin - 7 - O - beta - D - glukoronid, apigenin - 7 - O - beta - D - glukoronid, methylapigenin - 7 - O - beta - D - glukuronat, uridin, dan uracil.

2.1.3. Manfaat *A. ilicifolius*

Kulit batang pohonnya dapat dipakai untuk bahan pengawet dan obat-obatan. Campuran kulit batang beberapa species *A. ilicifolius* tertentu dapat dijadikan obat penyakit gatal atau peradangan pada kulit. Secara tradisional tanaman *A. ilicifolius* dipakai sebagai obat penawar gigitan ular, rematik, gangguan alat pencernaan dan lain-lain. Getah sejenis pohon yang berasosiasi dengan *A. ilicifolius*. (*blind-your-eye mangrove*) atau *Excoecaria agallocha* dapat menyebabkan kebutaan sementara bila kena mata, akan tetapi cairan getah ini mengandung cairan kimia yang dapat berguna untuk mengobati sakit akibat sengatan hewan laut. Air buah dan kulit akar *A. ilicifolius* muda dapat dipakai mengusir nyamuk. Daun *A. ilicifolius* bila di masukkan dalam air bisa dipakai dalam penangkapan ikan sebagai bahan pembius yang memabukkan ikan (*stupefied*) (Irwanto, 2006: 19).

2.2. HEPATOTOKSISITAS

2.2.1. Anatomi Hati

Hati mempunyai beberapa lobus dan tiap lobus hati mengandung banyak lobulus (asini), yang merupakan dasar unit fungsional hati. Menurut Johnson, dalam organ hati terdapat tiga jenis lobulus hati, yaitu ;

1. Lobulus Klasik, lobulus ini berbentuk heksagonal, dibagian tengahnya terdapat vena sentralis dan memiliki kanalis portal pada tiap sudutnya.
2. Lobulus portal, lobulus ini berbentuk segitiga, tiap segitiga memiliki kanalis portal dibagian tengahnya dan vena sentralis pada apeks.
3. Asinus hati, berbentuk rhomboid. Asinus hati memiliki vena sentralis pada tiap ujungnya dan kanalis portal kira-kira ditengah tiap sisinya.

Sel epitel kuboid tersusun dalam lembaran-lembaran dan tali-tali yang beranastomosis yang disebut sel parenkim hati. Sel parenkim hati merupakan struktur yang kompleks yang memiliki peranan penting dalam berbagai fungsi hati. Adapun bagian-bagian yang terdapat dalam sel parenkim hati adalah ;

1. Retikulum endoplasma halus, merupakan suatu organel perantara antara retikulum endoplasma kasar dan aparatus golgi. Sebelum memasuki aparatus golgi, protein yang baru disintesa melewati retikulum endoplasma halus.
2. Retikulum endoplasma kasar, memiliki fungsi utama mensintesa dan mensekresi semua protein serum, seperti albumin serum, mikroglobulin, transferin, kecuali imunoglobulin. Sel-sel parenkim yang terdapat dalam retikulum endoplasma kasar juga mensintesa unsur-unsur protein untuk lipoprotein serum.

3. Aparatus golgi, berupa tumpukan tiga sampai lima membran golgi yang berkembang baik.
4. Lisosom, terletak dekat dengan aparatus golgi dan kanakuli biliaris. Fungsi utama lisosom adalah menghancurkan unsur sel yang telah tua, berperan penting untuk pemulihan besi dan pergantian simpanan glikogen.
5. Mikrobodies, bentuknya lebih kecil dari lisosom. Mikrobodies mengandung enzim-enzim yang menyingkirkan hidrogen peroksidase dan memetabolisir alkohol dan lipid.
6. Mitokondria, menghasilkan adenosin tripfosfatase (ATP) yang berperan penting untuk aktivitas sintesa mitokondria.

(Johnson,1994: 306-308).

2.2.2 Jenis Kerusakan Hati

Ketoksikan suatu senyawa, ditentukan oleh adanya senyawa dalam bentuk utuh atau metabolitnya pada tempat kerja tertentu di dalam tubuh, serta keefektifan antaraksinya dengan organ dimana senyawa tersebut berada. Faktor yang mempengaruhi jenis kerusakan hati antara lain jenis senyawa toksiknya, daya toksisitasnya, lamanya paparan (akut atau kronik), dan dibawah ini merupakan jenis-jenis kerusakan hati :

1. Steatosis (perlemakan hati)

Perlemakan hati adalah kerusakan hati yang berhubungan dengan adanya akumulasi lemak yang berlebihan dalam hepatosit, berat lemak yang terkandung dalam hati lebih dari 5%. Secara bersamaan kadar lipid dan lipoprotein dalam

plasma mengalami penurunan. Akumulasi lipid berkaitan dengan gangguan salah satu proses antara sintesis atau sekresi lipoprotein. Selain gangguan diatas steatosis juga dapat disebabkan adanya gangguan konjugasi trigliserida dengan lipoprotein, adanya transfer VLDL yang melintasi membran sel, adanya penurunan fosfolipid, gangguan oksidasi lipid oleh mitokondria, energi (ATP) yang tidak mencukupi untuk sintesis lipid dan protein.

2. Nekrosis

Nekrosis sel adalah proses kematian sel. Kematian selnya akibat dari pecahnya membran plasma, yang sebelumnya terjadi perubahan morfologi seperti edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, disagregasi polisom, akumulasi trigliserida, pembengkakan mitokondria dengan gangguan cristae, terpisahnya organel dengan nukleus.

3. Kolestatis

Kolestatis adalah peristiwa dimana terjadi penekanan dan terhentinya aliran empedu. Inflamasi atau sumbatan pada pembuluh empedu yang dapat mengakibatkan retensi garam empedu, seperti akumulasi bilirubin.

4. Sirosis

Sirosis merupakan penyakit progresif yang dapat diidentifikasi dengan adanya akumulasi kolagen pada hati. Sirosis termasuk kerusakan kronik. Akumulasi fibrosa mengakibatkan hambatan aliran darah yang parah dan dalam proses detoksikasi dan metabolik normal pada hati. Penggunaan alkohol jangka panjang dapat menyebabkan sirosis.

5. Hepatitis

Hepatitis adalah peradangan hati yang biasanya disebabkan oleh virus. Obat dan senyawa kimia tertentu dapat menyebabkan hepatitis yang menyerupai infeksi oleh virus.

6. Karsinogenesis

Tumor hati yang paling sering terjadi dapat berupa karsinoma hepatoselular, kolangiokarsinoma, angiosarkoma, glandular karsinoma.

(Hodgson and Levi, 2000: 200 – 202).

2.2.3. Mekanisme Biokimia Hepatotoksik

Salah satu faktor penyebab terjadinya hepatotoksik adalah keberadaan enzim metabolisme Sitokrom P450 dalam konsentrasi yang tinggi pada hati. Enzim sitokrom P450 ini mengkatalisis aktivasi reaksi metabolisme. Meskipun hampir semua reaksi biotransformasi merupakan reaksi detoksifikasi, namun banyak reaksi oksidasi menghasilkan metabolit reaktif yang dapat memicu lesi pada hati. Metabolit reaktif akan terikat secara kovalen dengan senyawa makromolekul dalam sel seperti asam nukleat, protein, kofaktor, lemak dan polisakarida dimana akan mengakibatkan terjadinya perubahan dalam fungsi biologisnya (Hodgson and Levi, 2000: 203).

Ada beberapa golongan senyawa yang memiliki sifat dasar toksik terhadap hati, antara lain ; karbon tetraklorida, kloroform, etionin dan paracetamol. Senyawa-senyawa tersebut dapat menyebabkan kerusakan hati pada semua individu (Yunita, dkk. 2006: 207-208).

Agen hepatotoksik yang digunakan dalam penelitian ini adalah karbon tetraklorida (CCl_4). Senyawa ini dapat membentuk radikal bebas reaktif melalui tahap ; CCl_4 akan dirubah menjadi senyawa radikal triklorometil ($\text{CCl}_3\cdot$) dan kemudian diubah lagi menjadi radikal triklorometilperoksi ($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$). Senyawa radikal tersebut merupakan senyawa yang sangat reaktif dan pada umumnya mempunyai radius aksi yang sempit. Oleh karena itu nekrosis yang diinduksi CCl_4 terjadi dalam sentrilobular sel liver (Sanmugapriya and Vankataraman, 2006: 54-60) yang mengandung *isoenzyme* P450 dalam konsentrasi tertinggi dimana senyawa ini yang bertanggungjawab terhadap aktifasi CCl_4 (Hodgson and Levi, 2000: 204).

Radikal bebas juga berperan dalam terjadinya ikatan kovalen dengan lemak, protein, dan nukleotida sebagaimana terjadi pada reaksi peroksidasi lemak. $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ yang terbentuk dari reaksi $\text{CCl}_3\cdot$ dengan oksigen merupakan inisiator utama dari reaksi peroksidasi lemak. Reaksi peroksidasi lemak akan mengakibatkan terjadinya oksidasi lemak tak jenuh membentuk lemak hidroperoksida, dimana akan dipecah untuk menghasilkan berbagai produk akhir, terutama aldehida, yang dapat mengakibatkan toksisitas pada jaringan hati (Hodgson and Levi, 2000: 204).

2.2.4. Pemeriksaan Biokimia Hati

Pemeriksaan biokimia hati pada pasien penyakit hati atau kelainan fungsi hati diharapkan untuk menemukan adanya kelainan hati (deteksi), memastikan penyebab penyakit hati (diagnosis), mengetahui derajat beratnya

kelainan hati (prognosis), dan mengikuti perjalanan penyakit hati serta membuat penilaian hasil pengobatan (evaluasi). Dari uji fungsi hati yang biasa dikerjakan di laboratorium, hingga kini belum ada satu pun yang khas untuk memenuhi harapan tersebut. Salah satu pemeriksaan biokimia hati yang sering dilakukan di laboratorium adalah Serum Transaminase. Transaminase adalah sekelompok enzim yang bekerja sebagai katalisator dalam proses pemindahan gugus amino antara suatu alfa amino dengan asam alfa keto. Dua transaminase yang sering digunakan dalam menilai penyakit hati adalah *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) atau *Aspartat aminotransferase* (AST) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) atau *Alanin Aminotransferase* (ALT).

Serum transaminase adalah indikator yang peka pada kerusakan sel-sel hati. SGOT atau AST adalah enzim sitosolik, sedangkan SGPT atau ALT adalah enzim mikrosomal. Kenaikan enzim-enzim tersebut meliputi kerusakan sel-sel hati oleh karena virus, obat-obatan atau toksin yang menyebabkan hepatitis, karsinoma metastatik, kegagalan jantung dan penyakit hati grabulomatus dan yang disebabkan oleh alkohol. Kenaikan kembali atau bertahannya nilai transaminase yang tinggi biasanya menunjukkan berkembangnya kelainan dan nekrosis hati.

Enzim GOT (*Glutamic Oxaloacetic Transaminase*) terdapat dalam sel-sel organ tubuh, yang terbanyak otot jantung, kemudian sel-sel hati, otot tubuh, ginjal, dan pankreas. Sedangkan GPT (*Glutamic Pyruvic Transaminase*) banyak terdapat dalam sel-sel jaringan tubuh dan sumber utama adalah sel-sel hati (Sjaifoellah, 1996: 225-226).

Aktivitas biologis enzim adalah sebagai biokatalis yang mempermudah perubahan substrat menjadi produk. Dengan demikian adanya enzim akan mengurangi jumlah substrat dan bersamaan dengan itu akan menambah konsentrasi produk. Kecepatan perubahan substrat menjadi produk bergantung pada jumlah enzim yang mengkatalisis. Pengukuran laju reaksi ini, dapat dilakukan dengan mengukur substrat dalam dua waktu yang berbeda. Kecepatan perubahan konsentrasi substrat per satuan waktu adalah selisih dari konsentrasi substrat pada saat $t=t_2$ dikurangi konsentrasi pada saat $t=t_1$, dibagi selisih waktu antara t_2 dan t_1 . Ini dapat dinyatakan rumus sebagai berikut :

$$V = \frac{[S]_2 - [S]_1}{t_2 - t_1}$$

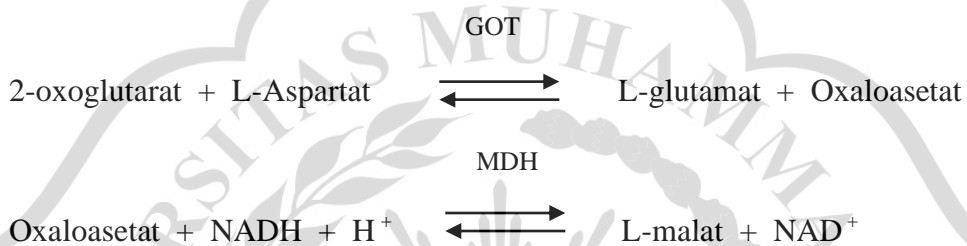
(Sadikin, 2002: 129).

Pengukuran laju reaksi enzim dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer. Cara ini menggunakan serapan cahaya pada panjang gelombang tertentu. Seperti diketahui, tiap senyawa mampu menyerap cahaya secara maksimum pada panjang gelombang cahaya tertentu. Panjang gelombang cahaya yang diserap tersebut dinamai sebagai λ_{maks} yang berbeda antara senyawa satu dengan senyawa lain (Sadikin, 2002: 130).

Pada kondisi normal enzim transaminase ini berada di dalam sel. Apabila terjadi adanya kerusakan sel-sel hati atau permeabilitas membran maka akan mengakibatkan enzim GOT dan GPT, arginase, laktat dehidrogenase dan Gamma glutamil transaminase bebas keluar sel, sehingga enzim masuk ke pembuluh darah melebihi keadaan normal dan kadarnya dalam darah meningkat. Namun demikian, indikator yang lebih baik untuk mendeteksi

kerusakan jaringan hati adalah SGOT dan SGPT, karena kedua enzim tersebut akan meningkat terlebih dahulu dan peningkatannya lebih drastis bila dibandingkan dengan enzim-enzim lainnya (Suarsana dan I ketut, 2005).

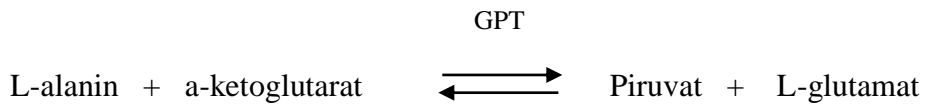
Meningkatnya enzim GOT dalam darah merupakan indikasi adanya kerusakan hati dengan berprinsip pada reaksi dibawah ini, maka enzim GOT dapat ditetapkan dengan metode UV dengan berdasar pada reaksi berikut ini:



Perpindahan gugus amino dari Aspartat kepada 2-oksoglutarat menjadi L-glutamat dan oksaloasetat dikatalisis oleh enzim GOT. Karena adanya (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hidroclide*) NADH dan *Malat dehidrogenase* (MDH) maka akan terjadi reduksi Oksaloasetat menjadi Malat. Reaksi yang terjadi dimonitor dengan mengikuti penurunan konsentrasi NADH pada panjang gelombang 340 nm. Penurunan konsentrasi NADH sebanding dengan aktivitas GOT .

Sedangkan prinsip dari penetapan GPT, berdasar pada reaksi pemindahan gugus amino L-alanin yang dikatalisis oleh enzim GPT. Enzim GPT tersebut mengkatalisis pemindahan gugus amino dari L-alanin menjadi Ketoglutarat yang menghasilkan Piruvat dan L-glutamat. Kemudian piruvat mengalami reduksi dan secara bersamaan NADH mengalami oksidasi menjadi NAD (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide*) dengan dikatalisis oleh *Laktat Dehidrogenase* (LDH). Kecepatan penurunan konsentrasi terbaca pada panjang gelombang 340 nm, yang

secara langsung sebanding dengan aktifitas ALT. Penetapannya berprinsip pada reaksi dibawah ini:



(Sadikin M, 2002: 300 dan 327).

2.3. Uraian Mengenai Flavonoid, Alkaloid, Saponin dan Tanin

2.3.1. Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah polifenol yang menjadi 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆ yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988: 1). Banyak senyawa dari golongan ini mudah larut air, terutama bentuk glikosidanya, dan oleh karena itu senyawa ini berada dalam ekstrak air tumbuhan (Robinson, 1995: 208). Flavonoid berupa senyawa fenol, karena itu warnanya berubah bila ditambah basa atau amonia (Harbone, 1987: 70).

2.3.2. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder terbesar. Pada umumnya alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam bentuk gabungan, sebagai bagian dari sistem

siklik. Alkaloid biasanya tanwarna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar. Uji sederhana, tetapi sama sekali tidak sempurna, untuk alkaloid dalam daun atau buah segar adalah rasa pahitnya di lidah (Harbone, 1987: 234-235).

2.3.3 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Pada larutan yang sangat encer, saponin sangat beracun untuk ikan. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba dan diantara banyak efek yang dilaporkan, efek yang ditunjang dengan baik oleh bukti ialah penghambatan jalur ke steroid anak ginjal, tetapi senyawa ini menghambat juga dehidrogenase jalur prostaglandin. Pada beberapa tahun terakhir ini saponin tertentu menjadi penting, karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan (Robinson, 1995: 157).

2.3.4. Tanin

Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan yang mengubah kulit hewan yang mentah menjadi kulit siap pakai karena kemampuannya menyambung silang protein. Pada tumbuhan letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan rusak, misalnya hewan memakannya, maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Reaksi ini

menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan. Pada kenyataannya, sebagian besar tumbuhan yang banyak bertanin dihindari oleh hewan pemakan tumbuhan karena rasanya sepat. Sehingga ini menjadi salah satu fungsi tanin dalam tumbuhan yaitu sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan (Harbone, 1987: 102-103).

2.4. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

Menurut Farmakope Indonesia edisi IV, definisi kromatografi adalah prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi differensial dinamis dalam sistem terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam absorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion (Depkes RI, 1995: 1002).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk keperluan yang lunak dalam pemisahan-pemisahan, disamping memberikan hasil pemilihan yang lebih baik juga membutuhkan waktu yang lebih cepat (Sastroamidjojo, 2002: 26). Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisah terdiri atas butir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak. Setelah pelat atau lapisan diletakan dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan penyangga yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl,1985: 3).

Beberapa keuntungan yang dimiliki dari metode kromatografi lapis tipis antara lain yaitu membutuhkan penyerap dan cuplikan dalam jumlah yang sedikit dan noda-noda yang terpisah dilokalisasi pada pelat seperti pada lembaran kertas bila dibandingkan dengan kromatografi kertas dan membutuhkan waktu yang lebih cepat serta diperoleh pemisahan yang baik. Waktu rata-rata untuk kromatografi lapis tipis dengan jarak pengembang 10 cm pada silika gel adalah sekitar 20-30 menit tergantung pada sifat fase gerak. Sedangkan pemisahan yang sama dengan kertas yang mempunyai jenis cepat memerlukan waktu sekitar 5 menit (Sastroamidjojo, 2002: 27).

