

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK HEPARMIN®  
TERHADAP PARAMETER SERUM KREATININ DAN  
NITROGEN UREA PADA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

**HEPARMIN® SUBCHRONIC TOXICITY TEST ON  
SERUM CREATININE AND NITROGEN UREA  
PARAMETERS IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)**

**HIKMAT AL HAKIM  
N011 19 1135**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK HEPARMIN® TERHADAP PARAMETER  
SERUM KREATININ DAN NITROGEN UREA PADA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

**HEPARMIN® SUBCHRONIC TOXICITY TEST ON SERUM CREATININE  
AND NITROGEN UREA PARAMETERS IN WHITE RATS  
(*Rattus norvegicus*)**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**HIKMAT AL HAKIM  
N011 19 1135**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK HEPARMIN® TERHADAP PARAMETER  
SERUM KREATININ DAN NITROGEN UREA PADA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

**HIKMAT AL HAKIM**

**N011 19 1135**



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt  
NIP. 19861111 201504 1 001

A. Anggriani, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt.  
NIP. 19930506 202005 4 001

Pada Tanggal, 23 September 2022

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**UJI TOKSISITAS SUBKRONIK HEPARMIN® TERHADAP PARAMETER  
SERUM KREATININ DAN NITROGEN UREA PADA TIKUS PUTIH  
(*Rattus norvegicus*)**

**HEPARMIN® SUBCHRONIC TOXICITY TEST ON SERUM CREATININE  
AND NITROGEN UREA PARAMETERS IN WHITE RATS  
(*Rattus norvegicus*)**

Disusun dan diajukan oleh :

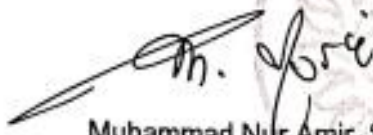
**HIKMAT AL HAKIM  
N011 19 1135**

Telah dipertahankan di hadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian Studi Program Sarjana Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Pada tanggal 23 Desember 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

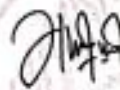
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

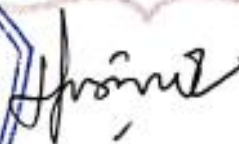


Muhammad Nur Amir, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19861111 201504 1 001



A. Anggriani, S.Si., M.Clin.Pharm., Apt.  
NIP. 19930506 202005 4 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurmasri Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 198601162 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Hikmat Al Hakim  
NIM : N011191135  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

Uji Toksisitas Subkronik Heparmin® Terhadap Parameter Serum Kreatinin  
dan Nitrogen Urea Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 13 Desember 2022

Yang menyatakan,



Hikmat Al Hakim

## ABSTRAK

**HIKMAT AL HAKIM.** *Uji Toksisitas Subkronik Heparmin® Terhadap Parameter Serum Kreatinin dan Nitrogen Urea Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)* (dibimbing oleh Muh. Nur Amir dan A. Anggriani).

Heparmin® merupakan produk jamu yang beredar di masyarakat dan dikembangkan skala perindustrian. Penggunaan Heparmin® perlu dipastikan aman pada manusia dengan melakukan uji toksisitas menggunakan hewan uji dalam jangka waktu tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh uji toksisitas subkronik Heparmin® terhadap parameter serum kreatinin dan nitrogen urea darah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini digunakan 40 ekor tikus (jantan dan betina) yang terbagi menjadi kelompok kontrol yang diberi NaCMC 0,5% dan kelompok perlakuan yang masing-masing diberi suspensi Heparmin® dengan variasi konsentrasi yaitu 128,25 ; 359 ; dan 1000 mg/kgBB Selama 90 hari. Hasil pengamatan menunjukkan kreatinin tikus jantan kelompok 1 dan 2 sebesar 0,714 mg/dl, Kelompok 3 0,742 mg/dl, dan kelompok 4 0,828 mg/dl. Sedangkan hasil pengukuran terhadap tikus betina, pada kelompok 1 yaitu 0,828 mg/dl, kelompok 2 0,914 mg/dl, kelompok 3 dan 4 sebesar 1,028 mg/dl, namun tidak berbeda secara signifikan ( $p>0,05$ ) dengan kelompok 1 sebagai kontrol. Adapun pemeriksaan nilai nitrogen urea darah pada kelompok 2, 3, dan 4 dengan kelompok 1 yakni 56,94 ; 52,36 ; 54,06 dan 59,90 mg/dl yang tidak berbeda secara signifikan ( $p>0,05$ ). Serta pada tikus jantan menunjukkan nilai BUN 44,98 ; 42,72 ; 43,42 dan 45,06 mg/dl yang tidak berbeda secara signifikan ( $p>0,05$ ) dengan kelompok kontrol. sehingga disimpulkan bahwa Heparmin® tidak bersifat toksik terhadap ginjal.

Kata Kunci : heparmin®, toksisitas, subkronik, kreatinin, nitrogen urea darah

## ABSTRACT

**HIKMAT AL HAKIM.** *Heparmin<sup>®</sup> Subchronic Toxicity Test On Serum Creatinine And Nitrogen Urea Parameters In White Rats (*Rattus norvegicus*)* (guided by Muh. Nur Amir and A. Anggriani).

Heparmin<sup>®</sup> is a herbal product is circulating in the community and developed on an industrial scale. The use of Heparmin<sup>®</sup> needs to be safe in humans by conducting a toxicity test using test animals for a certain period. This study aims to determine the effect of the Heparmin<sup>®</sup> subchronic toxicity test on serum creatinine and nitrogen urea blood parameters in white rats (*Rattus norvegicus*). In this study, 40 rats (male and female) were used, which were divided into a control group given 0.5% NaCMC and a treatment group each given Heparmin<sup>®</sup> suspension with a concentration variation of 128.25; 359; and 1000 mg/kgBB body weight for 90 days. The results showed that the creatinine of male rats in groups 1 and 2 was 0.714 mg/dl, group 3 was 0.742 mg/dl, and group 4 was 0.828 mg/dl. While the results of the measurement of female rats, group 1 was 0.828 mg/dl, group 2 was 0.914 mg/dl, and groups 3 and 4 were 1.028 mg/dl, but not significantly different ( $p>0.05$ ) with group 1 as control. The examination of BUN scores did not show any difference in groups 2, 3, and 4 from group 1, namely 56.94; 52.36; 54.06, and 59.90 mg/dl which were not significantly different ( $p>0.05$ ). Moreover, the male rats showed urea nitrogen blood values of 44.98; 42.72; 43.42 and 45.06 mg/dl, which were not significantly different ( $p>0.05$ ) from the control group. so it is concluded that Heparmin<sup>®</sup> is not toxic to the kidneys.

Keywords : heparmin<sup>®</sup>, subchronic, toxicity, creatinine, nitrogen urea blood

## DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Organ Ginjal	5
II.2 Pemeriksaan Fungsi Ginjal	8
II.3 Hewan Uji Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> )	11
II.4 HEPARMIN®	12
II.5 Uji Toksisitas Subkronik	14
BAB III METODE PENELITIAN	16
III.1 Alat dan Bahan	16
III.2 Metode Kerja	16



III.3 Analisis Data, Pembahasan, dan Kesimpulan	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
IV.1 Hasil Pengukuran Kadar Kreatinin dan Nitrogen Urea	21
IV.2 Pengaruh Pemberian Dosis Heparmin terhadap Kadar Serum Kreatinin Antarkelompok	23
IV.3 Pengaruh Pemberian Dosis Heparmin terhadap Kadar <i>Blood Urea</i> <i>Nitrogen</i> Antarkelompok	25
BAB V PENUTUP	28
V.1 Kesimpulan	28
V.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	34

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai rata-rata kadar serum kreatinin ( $\pm$ SD)	22
2. Nilai rata-rata kadar nitrogen urea ( $\pm$ SD)	22
3. Data pengukuran kadar serum kreatinin	37
4. Tabel distribusi normal <i>Shapiro-Wilk</i> kadar serum kreatinin tikus jantan	37
5. Tabel distribusi normal <i>Shapiro-Wilk</i> kadar serum kreatinin tikus betina	38
6. Tabel variasi homogenitas kadar serum kreatinin tikus jantan	38
7. Tabel variasi homogenitas kadar serum kreatinin tikus betina	38
8. Tabel deskriptif kadar serum kreatinin tikus jantan	38
9. Tabel deskriptif kadar serum kreatinin tikus betina	39
10. Tabel <i>One Way Anova</i> kadar serum kreatinin tikus jantan	39
11. Tabel <i>One Way Anova</i> kadar serum kreatinin tikus betina	39
12. Data pengukuran kadar nitrogen urea darah	40
13. Tabel distribusi normal <i>Shapiro-Wilk</i> kadar nitrogen urea tikus jantan	40
14. Tabel distribusi normal <i>Shapiro-Wilk</i> kadar nitrogen urea tikus betina	41
15. Tabel variasi homogenitas kadar nitrogen urea tikus jantan	41
16. Tabel variasi homogenitas kadar nitrogen urea tikus betina	41
17. Tabel deskriptif kadar nitrogen urea tikus jantan	41
18. Tabel deskriptif kadar nitrogen urea tikus betina	42
19. Tabel <i>One Way Anova</i> nitrogen urea tikus jantan	42
20. Tabel <i>One Way Anova</i> nitrogen urea tikus betina	42

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Anatomi ginjal	5
2. Anatomi nefron	6
3. Tahapan pembentukan urea	8
4. Tahapan pembentukan kreatinin	10
5. Hewan uji tikus putih	12
6. Kadar serum kreatinin terhadap kelompok tikus jantan dan betina	23
7. Kadar nitrogen urea terhadap kelompok tikus jantan dan betina	25
8. Penyiapan hewan uji	38
9. Tikus putih ( <i>Rattus norvegicus</i> )	38
10. Kapsul Heparmin®	38
11. Penimbangan Heparmin®	38
12. Pembuatan suspensi Heparmin®	38
13. Pemberian Heparmin® pada hewan uji	38
14. Pengambilan darah melalui ekor	39
15. Sentrifugasi sampel darah	39
16. Serum darah	39
17. Pengukuran kadar serum kreatinin dan BUN menggunakan <i>humalyzer</i>	39

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema perlakuan uji	34
2. Perhitungan dosis	35
3. Data hasil pengukuran dan analisis statistik	37
4. Izin etik penelitian	43
5. Dokumentasi Penelitian	44

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Masyarakat di Indonesia menjadi sangat familiar dan banyak menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai upaya penanggulangan masalah kesehatan, salah satunya dalam bentuk jamu. Jamu adalah bahan atau ramuan bahan yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan. Bahan-bahan pada jamu dapat berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut (Kemenkes RI, 2019). Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, tercatat bahwa masyarakat yang memanfaatkan jamu adalah sebesar 31,4% dan mengalami kenaikan dibandingkan tahun-tahun sebelumnya (Litbangkes Kemenkes RI, 2019). Hal ini menunjukkan potensi dalam pengembangan perindustrian obat-obatan yang berbasis tumbuhan di Indonesia untuk semakin meningkatkan efisiensi dan produktivitasnya sehingga mampu menghasilkan produk obat yang berkualitas.

Salah satu produk obat herbal yang beredar di masyarakat dan dikembangkan dalam skala perindustrian adalah sediaan obat Heparmin<sup>®</sup>. Heparmin<sup>®</sup> merupakan sediaan obat berbentuk kapsul yang mengandung 100% bahan alam, yaitu 100 mg ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita*),

75 mg rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*), 100 mg jintan hitam (*Nigella sativa*), dan 100 mg ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). Heparmin<sup>®</sup> biasanya digunakan sebagai hepatoprotektor, antiinflamasi, antioksidan dan antivirus (Ibrahim *et al.*, 2012).

Untuk menguji keamanan penggunaan sediaan Heparmin<sup>®</sup>, maka dapat dilakukan uji toksisitas. Uji toksisitas merupakan pengujian untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada hewan uji, untuk menjamin keamanannya saat dikonsumsi oleh manusia (Ningsih *et al.*, 2017). Menurut PerKB POM Nomor 7 tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas, salah satu uji toksisitas yang dapat dilakukan adalah toksisitas subkronik yang dilakukan dengan pemberian zat secara berulang, biasanya setiap hari atau tiga hari sekali setiap minggu selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan. Tujuan dari uji toksisitas subkronik adalah untuk mendapatkan informasi tentang adanya efek toksik dari zat yang tidak terdeteksi dalam uji toksisitas akut, selain itu, juga untuk memperoleh informasi potensi efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu, dan dapat mempelajari efek reversibilitas pada zat tersebut (Kemenkes RI, 2014). Pengaruh uji toksisitas dapat diamati pada berbagai organ tubuh, termasuk ginjal. Ginjal merupakan salah satu organ yang peka terhadap adanya efek toksik, karena ginjal menghasilkan urin yang merupakan jalur utama ekskresi toksikan serta mempunyai volume aliran darah yang tinggi. Salah satu parameter toksisitas terhadap ginjal adalah terjadi peningkatan

atau penurunan kadar serum kreatinin dan nitrogen urea dalam darah (Ningsih *et al.*, 2017).

Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatin yang dihasilkan oleh jaringan otot, dan dieksresikan melalui urin. Jika kadar kreatinin tinggi atau rendah, maka kemungkinan terdapat masalah dengan ginjal. Dibandingkan dengan pemeriksaan parameter lain, pemeriksaan kreatinin lebih sering digunakan sebagai indikator toksisitas pada ginjal (Ningsih *et al.*, 2021). Berdasarkan pustaka nilai kreatinin dipengaruhi oleh adanya perbedaan dari usia dan jenis kelamin, Nilai serum kreatinin normal pada usia 20 hingga 70 tahun pada pria yaitu 0,63-1,16 mg/dl dan wanita 0,48-0,93 mg/dl (Delanaye *et al.*, 2017). Khusus pada hewan uji tikus nilai serum kreatinin normal yaitu 0,578-1,128 mg/dl (Ratih *et al.*, 2016). Sedangkan, Nitrogen urea adalah produk akhir dari metabolisme protein, hampir seluruh nitrogen urea di sintesis dalam hati. Nitrogen urea kemudian akan difiltrasi oleh ginjal serta dapat mencerminkan perbandingan antara produksi dan klirens urea. Apabila terjadi peningkatan atau penurunan secara signifikan, maka dapat dibandingkan serum kreatinin untuk mengevaluasi fungsi ginjal akibat toksisitas (Widyaningsih *et al.*, 2016). Berdasarkan pustaka nilai nitrogen urea normal pada orang dewasa yaitu 6 - 20 mg/dl dan lansia 8 -23 mg/dl (Delanaye *et al.*, 2017). Khusus pada hewan uji tikus nilai nitrogen urea normal yaitu 18,65 – 60,0 mg/dl (Djabir, 2017).

Berdasarkan uraian di atas, uji toksisitas perlu dilakukan untuk memastikan keamanan penggunaan obat tradisional khususnya jamu serta memajukan industri obat tradisional sehingga mendukung perkembangan bidang kesehatan dan pengobatan. Selain itu, Heparmin<sup>®</sup> sebagai salah satu sediaan jamu yang beredar di masyarakat belum memiliki data cukup terkait keamanannya terhadap ginjal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian uji toksisitas subkronik Heparmin<sup>®</sup> terhadap parameter serum kreatinin dan nitrogen urea pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

## **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh uji toksisitas subkronik Heparmin<sup>®</sup> terhadap parameter serum kreatinin tikus putih (*Rattus norvegicus*)?
2. Bagaimana pengaruh uji toksisitas subkronik Heparmin<sup>®</sup> terhadap parameter nitrogen urea tikus putih (*Rattus norvegicus*)?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh uji toksisitas subkronik Heparmin<sup>®</sup> terhadap parameter serum kreatinin tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Untuk mengetahui pengaruh uji toksisitas subkronik Heparmin<sup>®</sup> terhadap parameter nitrogen urea tikus putih (*Rattus norvegicus*).



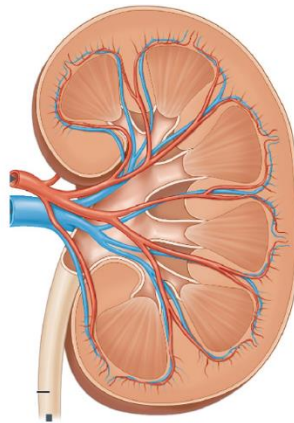
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Organ Ginjal

##### II.1.1 Anatomi Ginjal

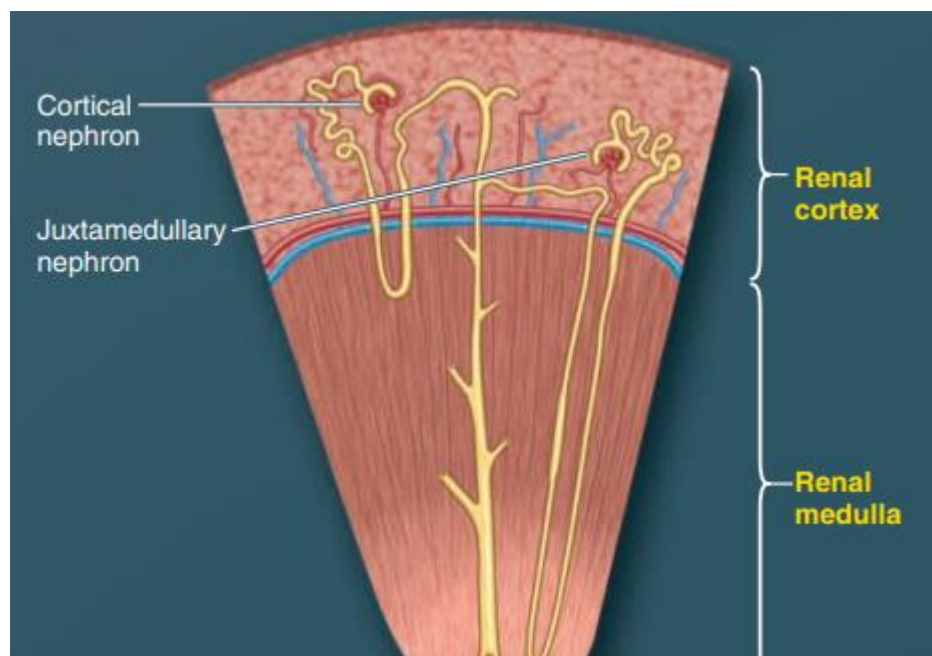
Ginjal merupakan sepasang organ yang berbentuk biji kacang berwarna kemerahan dengan panjang sekitar 4 hingga 5 inci, terletak dibelakang rongga perut (antara rongga perut dan otot punggung), letak ginjal kanan lebih rendah dibandingkan ginjal kiri karena adanya organ hati yang cukup besar diatas ginjal kanan (Sherwood, 2016).



**Gambar 1. Organ ginjal (Anonim, 2022)**

Secara makroskopis ginjal terdiri dari dua bagian utama, yaitu bagian medula (dalam) dan bagian korteks (luar). Bagian yang berwarna merah muda merupakan korteks dan berwarna coklat kemerahan bagian medula. Korteks terstruktur halus dan terdiri dari zona *jukstamedullary* dalam dan kortikal luar. Medula terdiri dari 8 hingga 10 massa jaringan yang berbentuk kerucut (piramida ginjal) (Tortora, 2017).

Ginjal dikelilingi oleh 3 lapisan jaringan yang terdiri atas lapisan dalam (kapsul ginjal) untuk melindungi dari cedera serta menjaga bentuk ginjal, lapisan tengah (kapsul adiposa) untuk menahan kuat posisi serta melindungi cedera di rongga perut, dan lapisan luar (fasia ginjal) untuk mengikat ginjal ke struktur sekitar serta dinding perut (Tortora, 2017).



Gambar 2. Anatomi nefron (Sherwood, 2016)

Secara mikroskopis ginjal terdiri atas nefron. Setiap nefron terdiri dari sel darah ginjal (badan malpighi atau glomerulus dan kapsul Bowman) dan tubulus ginjal. Nefron terbagi menjadi dua jenis, yaitu nefron kortikal dan nefron *jukstamedular* yang dibedakan berdasarkan lokasi serta panjang dari beberapa struktur. Semua nefron berasal dari korteks namun glomerulus nefron kortikal terletak pada lapisan luar korteks, sedangkan glomerulus

nefron *jukstamedullar* terletak pada lapisan dalam korteks di samping medula (Sherwood, 2016).

Ginjal tikus sedikit berbeda dengan ginjal manusia. Jumlah nefron pada ginjal tikus sebanyak 30.000 hingga 35.000 nefron sedangkan ginjal manusia sebanyak 800.000 hingga 1.000.000 (Tortora, 2017). Tikus hanya memiliki satu papila ginjal atau *single papilla*, tetapi manusia memiliki banyak papila. Perbedaan lainnya pada korpuskulum ginjal tikus terletak pada tiga bagian yaitu superfisial, midkortial, dan nefron jukstamedular, sedangkan pada manusia hanya terletak di korteks. Kemudian ginjal tikus memiliki kesamaan dengan ginjal pada manusia, korteks ginjal tikus mengelilingi medula oblongata. korteks ginjal tikus dibagi menjadi dua bagian yaitu labirin korteks madnaya korpuskulum ginjal dan segmen tubulus yang rumit dan medullary rays dibentuk oleh segmen tubulus ginjal yang lurus (Faustinawati, 2017).

### **II.1.2 Fisiologi Ginjal**

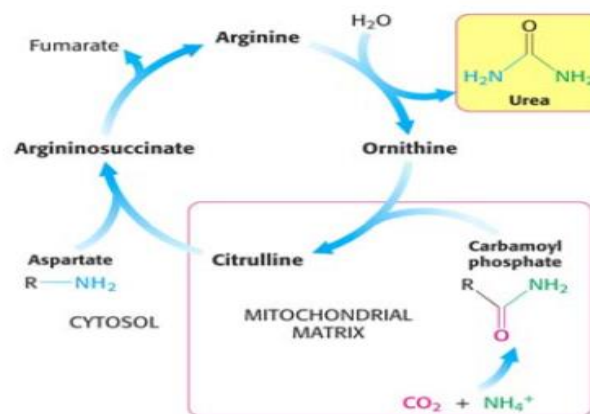
Ginjal merupakan organ yang memiliki fungsi dalam mempertahankan keseimbangan air dan elektrolit serta melakukan eksresi produk akhir metabolisme dalam tubuh (filtrasi, reabsopsi, augmentasi) (Faustinawati, 2017). Adapun fungsi lain dari ginjal yakni mengatur tekanan darah dengan mengeksresikan natrium dan air serta memproduksi enzim renin yang dapat mengaktifkan jalur renin-angiotensin-aldosteron, mengatur Kadar Glukosa dengan menggunakan asam amino glutamin dan prekursor lainnya yang

kemudian menghasilkan glukosa baru, serta ginjal dapat menghasilkan dua hormon yakni kalsitriol dan eritropoietin (Hall & Guyton, 2014).

## II.2 Biomarker Pemeriksaan Fungsi Ginjal

### II.2.1 Nitrogen Urea Darah

Nitrogen Urea Darah atau *Blood Urea Nitrogen* (BUN) merupakan produk sisa hasil metabolisme protein. Hampir semua urea dibentuk dalam hati melalui proses katabolisme protein. Kadar BUN merupakan gambaran terkait keseimbangan antara pembentukan ureum oleh hati dan ekskresi ureum oleh ginjal (Amir, 2015). Kadar BUN dapat digunakan sebagai parameter terhadap fungsi ginjal. Peningkatan kadar BUN merupakan karakteristik kimiawi pertama yang ditunjukkan dalam gangguan fungsi ginjal yang parah (Sherwood, 2014). Kadar BUN darah dapat mengalami peningkatan apabila terjadi kerusakan, demam dan infeksi (Lewis, 2003). Adapun faktor yang dapat menurunkan kadar BUN yakni diet rendah protein, malnutrisi, kerusakan hati, dan kehamilan (Sutedjo, 2009).



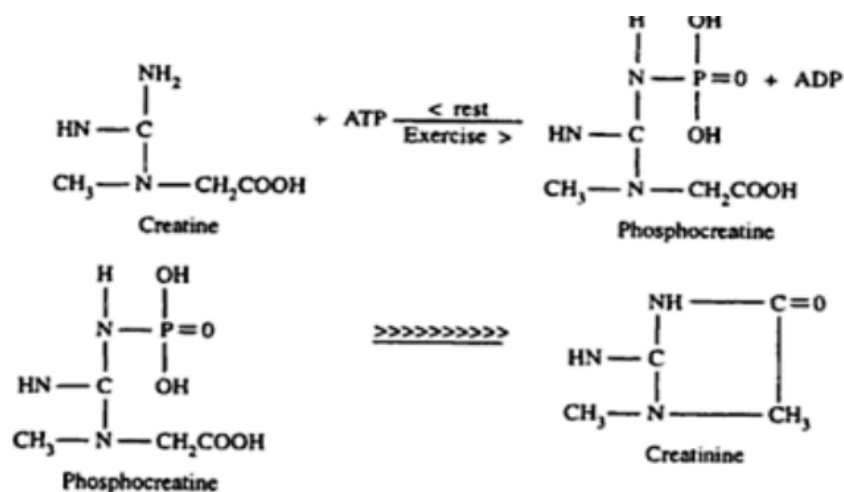
Gambar 3. Tahapan pembentukan urea (Miles, 2003)

Berdasarkan pada gambar 3, siklus urea terdiri dari 4 reaksi. Reaksi pertama terjadi di matriks mitokondria, sedangkan reaksi selanjutnya terjadi di sitosol dengan jalur yang mencakup dua kompartemen seluler. Reaksi pertama dimulai oleh ornitin transkarbamoilase yang mentransfer gugus karbamoil dari karbamoil fosfat ke ornitin untuk membentuk sitrulin. Reaksi kedua dikatalis oleh enzim argininosuksinat sintetase yang menggunakan ATP dalam mengaktifkan citrulline dengan cara membentuk *intermediet citrully-AMP*. Zat ini diserang oleh gugus amino dari residu aspartat untuk membentuk argininosuksinat. Reaksi ketiga dikatalis oleh argininosuksinat liase yang memecah argininosuksinat menjadi arginin dan fumarat. Kemudian reaksi keempat dikatalis oleh arginase yang memotong arginin dalam menghasilkan urea yang akan berdifusi dari sel hati ke cairan tubuh sehingga akan disekresi oleh ginjal (Miles, 2003).

Pemeriksaan BUN dapat menggunakan dua metode, yaitu metode *Diasetil Monoksim* dan metode Enzymatic UV test, Glutamate Dehidrogenase (GLDH). Metode *Diasetil Monoksim* merupakan metode yang menggunakan reaksi antara urea dalam filtrat dengan diasetil monoksim dalam suasana basa yang kemudian mengoksidasi reagen dan tiosemikarbazid sehingga menghasilkan warna merah dan diukur menggunakan kolorimeter. Metode Enzymatic UV test, glutamate dehidrogenase (GLDH) merupakan reaksi oksidasi nitrogen urea dengan menggunakan enzim GLDH dan urease yang akan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm dengan suhu 37 derajat celcius (BPOM RI, 2014).

## II.2.2 Kreatinin

Kreatinin merupakan produk akhir dari hasil metabolisme kreatinin otot dan kreatinin fosfat yang disintesis dalam hati serta disekresikan ke dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Peningkatan kadar kreatinin dalam darah dapat digunakan untuk memperkirakan laju filtrasi glomerulus. Peningkatan ini disebabkan oleh kerusakan fungsi penyaringan pada ginjal yang dapat berdampak pada penurunan laju filtrasi glomerulus. Sejumlah kreatinin akan dibuang melalui urin sehingga kadar kreatinin yang tinggi dapat mengidentifikasi kerusakan pada ginjal (Amir, 2015).



Gambar 4. Tahapan pembentukan kreatinin (Pasquale, 2000)

Berdasarkan tahapan pembentukan kreatinin pada gambar 4, kreatinin diawali dengan sintesis ATP yang dihasilkan dari proses glikolisis dan fosforilasi oksidatif yang kemudian bereaksi dengan kreatinin sehingga membentuk ADP dan fosfokreatin yang merupakan senyawa fosfat berenergi tinggi. Fosfokreatin akan dipecah menyediakan cadangan energi ketika otot

digunakan secara berlebihan. Oleh karena itu, jumlah fosfokreatinin akan meningkat jika otot digunakan secara berlebihan karena menyiapkan cadangan energi yang banyak. Jumlah fosfokreatin yang berlebihan akan menghasilkan produk sampingan berupa kreatinin yang akan disekresikan melalui urin (Pasquale, 2000).

Metode pemeriksaan kreatinin dapat dilakukan dengan menggunakan enzim kreatinin deiminase dengan cara mengubah kreatinin menjadi amonia dan *1-methylhydantoin* kemudian amonia direaksikan dengan *cresol red* dan dideteksi dengan spektrofotometri dengan panjang gelombang 555 nm. Metode pemeriksaan kreatinin selanjutnya adalah metode *jaffe reaction* dengan prinsip kerja kreatinin direaksikan dengan asam pikrat dalam suasana alkalis, sehingga membentuk senyawa kuning jingga menggunakan fotometer (Marks, 2000).

### **II.3 Hewan Uji Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Suckow *et al.* (2019), yaitu:

Kingdom : Animalia  
Divisi : Chordata  
Kelas : Mammalia  
Ordo : Rodentia  
Famili : Muridae  
Subfamili : Murinae  
Genus : Rattus

Spesies : *Rattus norvegicus*



**Gambar 5. Hewan uji tikus putih**  
(Sumber dokumentasi pribadi)

Hewan uji tikus putih merupakan hewan yang digunakan sebagai uji keamanan suatu bahan obat yang berkaitan terhadap suatu penyakit. Penggunaan hewan uji sebagai model penelitian biomedik diperlukan karena pengujian secara langsung kepada manusia dapat mengakibatkan kerusakan fisik hingga kematian (Fitria *et al*, 2019). Tikus putih memiliki beberapa keunggulan sebagai hewan uji, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dan genetik manusia, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah didapatkan, dan berkembang biak dengan cepat (Alifanny, 2018).

#### **II.4 Sediaan Heparmin®**

Heparmin® merupakan obat herbal yang dibuat dari ekstrak bahan alam yang mengandung 100 mg ekstrak daun paliasa (*Kleinhovia hospita*), 75 mg rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza*), 100 mg jintan hitam (*Nigella sativa*), dan 100 mg ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*). Kurkuminoid yang terkandung dalam temulawak memiliki efek biologis sebagai pelindung hati



(hepatoprotektor), antibakteri, dan antiinflamasi. Jintan hitam memiliki kandungan utama *tymoquinon* mempunyai efek hepatoprotektif, antioksidan, antibakteri, dan antivirus. Ikan gabus memiliki kandungan utama vitamin, asam amino, dan protein yang dibutuhkan tubuh sebagai sumber energi, proses metabolisme, regenerasi sel-sel tubuh yang rusak, dan meningkatkan sistem imunitas tubuh. Daun paliasa memiliki kandungan flavanoid dan saponin yang berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, dan hepatoprotektor (Ibrahim, 2012).

Rimpang temulawak (*Curcuma xanthorriza*) pada dosis 100-200 mg/kgBB menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi, Tetapi tidak menimbulkan efek samping pada organ manusia (Itokawa *et al*, 2008). Selain itu, data potensi ketoksikan akut (LD50) temulawak 5 – 15 g/kg BB pada tikus jantan maupun betina yang termasuk kategori praktis tidak toksik (Kertia *et al*, 2005). Selanjutnya, komponen pada biji jintan hitam (*Nigella sativa*) memiliki komponen utama minyak atsiri (*thymoquinon*,  $\alpha$ -pinene) yang menunjukkan nilai (LD50) memiliki toksisitas sedang 616,6 – 3317 mg/kg BB (El-Hidayah *et al*, 2003). Kemudian, komponen pada daun paliasa (*Kleinhovia hospita*) yang mengandung flavanoid dan saponin, menunjukkan nilai dengan data potensi ketoksikan akut (LD50) sebesar >15g/kg BB pada tikus jantan maupun betina yang termasuk kategori praktis tidak toksik (Raflizar, 2009). Adapun komponen pada ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) berdasarkan data potensi ketoksikan akut (LD<sub>50</sub>) pada dosis 250 - 1000 mg/kgBB terhadap tikus jantan maupun betina tidak menyebabkan toksisitas (Hendriani, 2017).

## II.5 Uji Toksisitas Subkronik

Berdasarkan PerBPOM No 32 tahun 2019 tentang persyaratan keamanan dan mutu obat tradisional, terdapat beberapa kelompok kategori obat tradisional yaitu jamu, obat herbal terstandar (OHT), dan fitofarmaka. Dari ketiga kelompok tersebut, jamu yang paling dikenal secara umum oleh masyarakat. Di Indonesia, jamu merupakan obat tradisional yang diproduksi oleh industri obat tradisional atau usaha kecil obat tradisional (BPOM, 2019). Hal ini menjadi potensi dalam pengembangan obat-obatan yang berbasis tumbuhan untuk semakin meningkatkan keamanan dan khasiat secara ilmiah dengan uji praklinik yang berdasarkan PerKB POM No 10 tahun 2022 sehingga dihasilkan produk obat yang berkualitas (BPOM, 2022). Oleh karena itu, pelaksanaan uji praklinik seperti uji toksisitas subkronik diperlukan untuk meningkatkan mutu obat tradisional di masyarakat.

Aturan terkait pelaksanaan uji toksisitas subkronik telah diatur oleh BPOM dan FDA. Menurut PerBPOM Nomor 10 Tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praklinik secara *In Vivo*, uji toksisitas subkronik oral adalah suatu pengujian yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara oral dengan dosis berulang pada hewan uji selama waktu tertentu dan mempelajari efek reversibilitas pada zat tersebut. Waktu pelaksanaan pengujian dapat berlangsung selama 14, 28, atau 90 hari (BPOM, 2022). Sedangkan, menurut *FDA Redbook 2000: Guidance for Industry and Other Stakeholders Toxicological Principles for the*

*Safety Assessment of Food Ingredients*, uji toksisitas subkronik dapat dilaksanakan selama 90 hari hingga 12 bulan (FDA, 2007).

Selama waktu pengujian, tanda-tanda toksik dan farmakologis dapat timbul, sehingga diperlukan data klinis tambahan yang salah satunya dapat diperoleh dari pengukuran parameter biokimia klinis. Berdasarkan PerKB POM No 10 tahun 2022, parameter biokimia klinis yang dapat diukur meliputi parameter fungsi hati, seperti GOT, GPT, GGT serta parameter fungsi ginjal, seperti nitrogen urea, kreatinin, dan bilirubin total. Selain itu juga dilakukan pemeriksaan hitopatologi dan hematologi (BPOM, 2022). Sedangkan, menurut FDA, pengukuran parameter biokimia klinis dilakukan untuk semua parameter yang terkait dengan keseimbangan elektrolit, metabolisme karbohidrat, fungsi hati, dan fungsi ginjal (FDA, 2007).