

The Sub Acute Toxicity Study of Purified Gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) to Liver Histology and its Reversibility on Rats

Dita Permatasari, Indri Oktavia, Armenia Nazar*, Almahdy Ahmadin

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang

*Correspondence author: armenia@phar.unand.ac.id

Abstract. Purified gambir proved to have many pharmacological activities and has the potential to be developed into standardized herbal medicines. This study was conducted to determine the safety of purified gambir to liver histology. A total of 30 female white rats were used which divided into four groups: one control group and three test groups treated with purified gambir at doses of 5, 10, and 20 mg/kgbw orally for 14 days, respectively. On the scheduled days, three animals from each group were killed for liver histological examination. The degree of liver damage and liver organ ratio in this study were measured. The reversibility of liver damage was observed from the change in the value of the damage degree, and liver organ ratio after the administration of gambir was stopped. Data were analyzed using two-way ANOVA followed by Duncan (significance was taken at $p < 0.05$). The administration of purified gambir in rats for 14 days at tested groups caused significant liver tissue damage ($p < 0.05$). In this situation, the degree of tissue damage increased, and the liver organ ratio decreased in all tested groups. After the administration was stopped, the liver damage degree decreased insignificantly, while the liver organ ratio is significantly increased.

Keywords: subacute toxicity, purified gambir, *Uncaria gambir Roxb.*, liver histology



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2021 by author.

1. PENDAHULUAN

Pada dua dasa warsa terakhir, perhatian terhadap penggunaan obat-obat tradisional menunjukkan peningkatan, baik di negara berkembang maupun negara maju (Departemen Kesehatan RI, 2007). Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan 60-80% populasi dunia mendapatkan perawatan medis dari tanaman herbal dan 65% dari penduduk negara maju telah menggunakan pengobatan tradisional (Silalahi, Nisyawati, Walujo, Supriatna, & Mangunwardoyo, 2015). Obat tradisional Indonesia telah dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat sejak berabad-abad tahun yang lalu dan telah menjadi bagian dari budaya

bangsa Indonesia yang tidak terpisahkan. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) (Dhalimi, 2006).

Tumbuhan gambir digunakan masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit seperti luka terbakar, luka, sariawan, radang gusi (getahnya), radang tenggorokan, diare, disentri, dan batuk (Isnawati et al., 2012). Dari penelusuran literatur, telah dilaporkan adanya penelitian aktifitas gambir sebagai analgetik dan antiinflamasi (Sari, 2010), antimikroba, antioksidan dan antinematoda (Isnawati et al., 2012). Penelitian tentang toksisitas terhadap fungsi ginjal dan hati telah dilakukan sebelumnya (Armenia, et al., 2021).

Fakultas Farmasi Universitas Andalas merupakan sentra penelitian gambir dan telah menghasilkan produk gambir terpurifikasi. Gambir terpurifikasi mengandung $\geq 90\%$ (+)-katekin sesuai dengan persyaratan Farmakope Herbal Indonesia. Karena khasiatnya yang begitu banyak, gambir terpurifikasi ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat herbal terstandar. Oleh karena itu, perlu dilakukan serangkaian uji untuk menjamin standar mutu dan keamanan gambir. BPOM RI (2014) menyatakan uji dalam penetapan standar mutu dan keamanan obat tradisional meliputi uji toksisitas akut, subakut, kronik, subkronik, dan uji toksisitas spesifik (BPOM RI, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk melengkapi data keamanan gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir Roxb.*) agar dapat dikembangkan menjadi obat herbal terstandar. Oleh karena itu, serangkaian uji harus dilakukan, salah satunya adalah uji toksisitas sub akut terhadap organ hati yang dilihat secara histologis. Tujuannya untuk mempelajari pengaruh pemberian gambir terpurifikasi terhadap jaringan hati tikus putih betina, dan apakah kerusakan jaringan yang ditimbulkan dapat mengalami reversibilitas pada waktu tertentu. Parameter yang diamati adalah rasio organ hati dan derajat kerusakan jaringan hati.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengetahui pengaruh pemberian gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir Roxb.*) pada beberapa tingkat dosis dan reversibilitasnya terhadap organ hati tikus putih betina yang dilihat secara histologi. Sejumlah 30 ekor tikus betina berumur $\pm 2-3$ bulan dengan berat 150-200 g dibagi menjadi 4 kelompok (3 kelompok uji dan 1 kelompok kontrol). Kelompok uji diberikan larutan gambir terpurifikasi dengan dosis 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb dan 20 mg/kgbb dengan masing-masing kelompok uji terdiri dari 9 ekor tikus sedangkan kelompok kontrol diberikan aquadest

dengan jumlah 3 ekor tikus. Gambir diberikan secara oral satu kali sehari selama 14 hari, lalu dihentikan pemberiannya selama 7 hari berikutnya dan 3 ekor hewan dari masing-masing kelompok dikorbankan pada hari ke-8, hari ke-15 dan hari ke-22 lalu diambil organ hati untuk diamati histopatologinya dan dihitung rasio organ hati. Preparat hispatologi disiapkan dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x dalam lima lapang pandang. Penilaian dilakukan dengan menjumlahkan sel berdasarkan klasifikasinya lalu dikalikan dengan skor Manja Roenigk.

Analisis Data

Data rasio organ hati dan derajat kerusakan hati yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) dua arah. Hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan. Kebermaknaan diambil pada $p < 0,05$. Penelitian ini telah mendapatkan lolos kaji etik dari Komite Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan No. 154/KEP/FK/2020.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

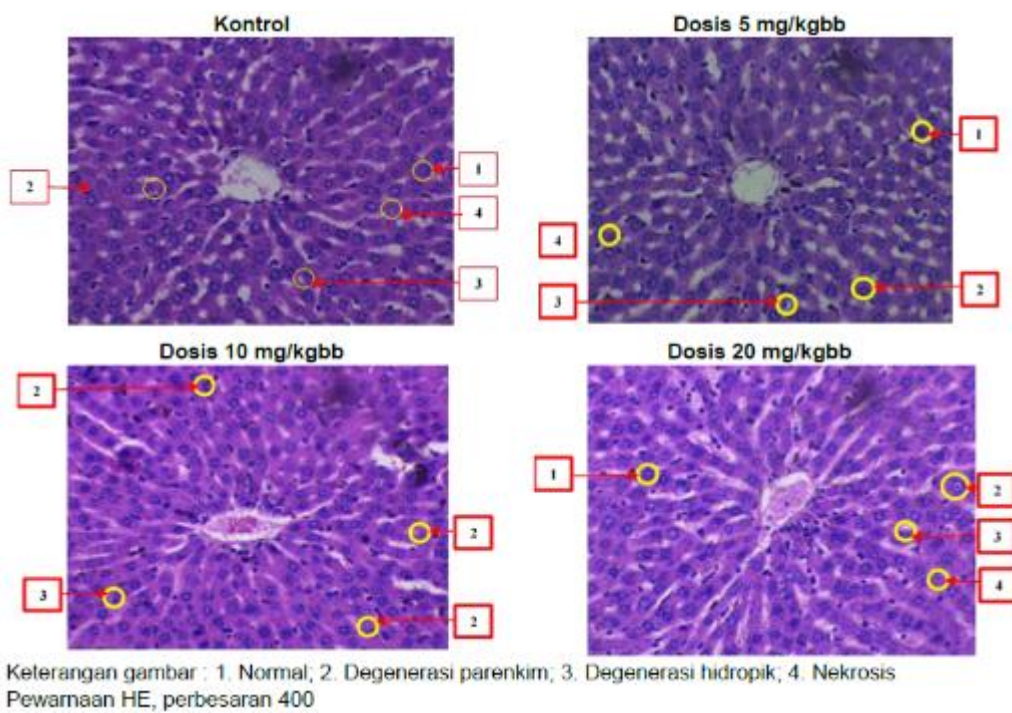
Skor Rata-Rata Histopatologi hati

Hasil penelitian menunjukkan tidak adanya pengaruh bermakna dari dosis gambir terpurifikasi terhadap nilai kerusakan histopatologi hati ($p > 0,05$), sementara terdapat pengaruh bermakna dari lama pemberian gambir terpurifikasi ($p < 0,05$). Untuk interaksi antara kedua variabel terhadap nilai kerusakan hispatologi tidak menunjukkan pengaruh yang bermakna ($p > 0,05$).

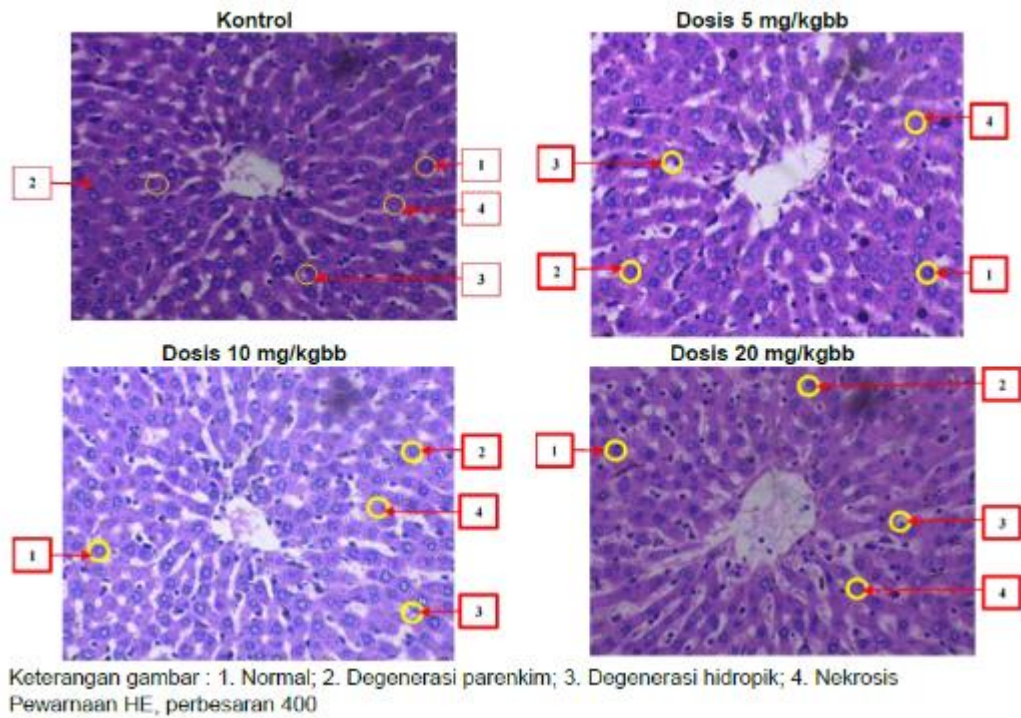
Pemberian gambir terpurifikasi selama 7 hari tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap nilai kerusakan histopatologi hati hewan uji dibandingkan dengan kontrol. Nilai kerusakan histopatologi rata-rata hati hewan uji mengalami kenaikan secara signifikan setelah gambir terpurifikasi diberikan selama 14 hari. Pengaruh pemberian gambir terpurifikasi dan waktu terhadap skor rata-rata hispatologi hati dapat dilihat pada Tabel 1. Kemudian, pemberian gambir terpurifikasi dihentikan selama 7 hari dan menunjukkan nilai kerusakan histopatologi rata-rata hati hewan uji kembali mengalami penurunan, tetapi tidak signifikan. Dibawah ini terdapat gambaran hispatologi hati hewan pada hari ke – 8 (Gambar 1), hari ke – 15 (Gambar 2), dan hari ke -22 (Gambar 3) dengan dosis uji 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb dan 20 mg/kgbb.

Tabel 1. Pengaruh Pemberian Gambar Terpurifikasi dan Waktu Terhadap Skor Rata-rata Histopatologi Hati Tikus Putih Betina

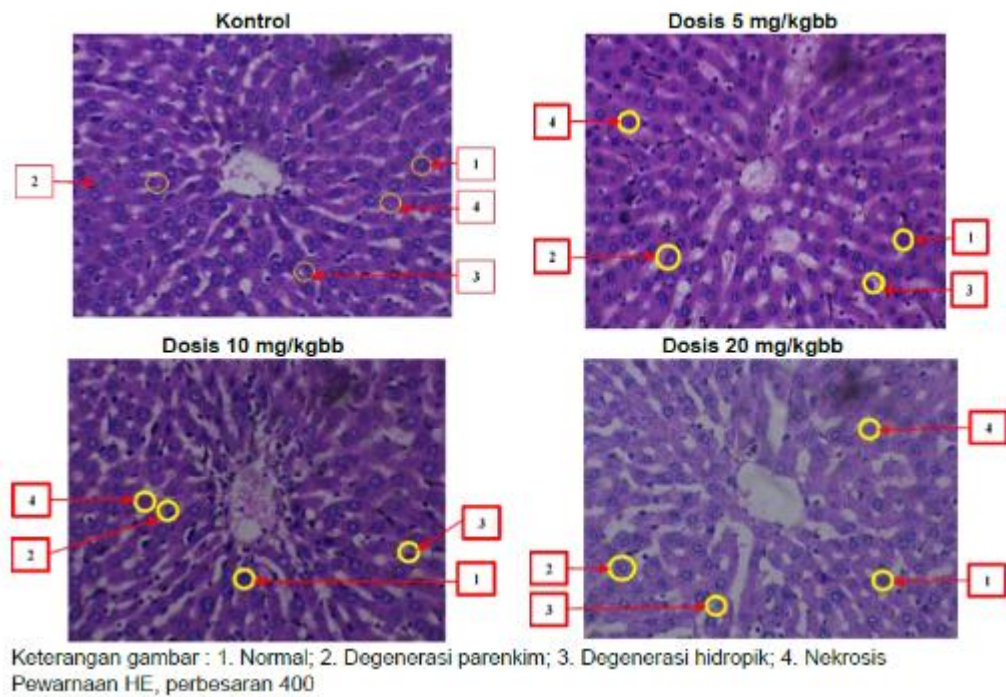
Dosis (mg/kgbb)	Skor histopatologi hati pada hari ke- ± SE				Rata-rata ± SE
	0	8	15	22	
Kontrol	144,067±2,123	144,067±2,123	144,067±2,123	144,067±2,123	144,067±1,062
5	144,067±2,123	143,800±2,123	148,400±2,123	145,133±2,123	145,350±1,062
10	144,067±2,123	139,000±2,123	151,400±2,123	150,200±2,123	146,167±1,062
20	144,067±2,123	142,933±2,123	148,667±2,123	148,600±2,123	146,067±1,062
Rata-rata ± SE	144,067±1,062 ^{a,b}	142,450±1,062 ^a	148,133±1,062 ^c	147,000±1,062 ^{b,c}	



Gambar 1. Gambaran Hispatologi Hati Hewan pada Hari ke – 8 dengan Dosis Uji 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb dan 20 mg/kgbb



Gambar 2. Gambaran Hispatologi Hati Hewan pada Hari ke – 15 dengan Dosis Uji 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb dan 20 mg/kgbb



Gambar 3. Gambaran Hispatologi Hati Hewan pada Hari ke – 22 dengan Dosis Uji 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb dan 20 mg/kgbb

Rasio Organ Hati

Pada pengamatan parameter rasio organ hati terlihat bahwa terdapat pengaruh bermakna dari dosis dan lama pemakaian gambir terpurifikasi terhadap rasio organ hati ($p < 0,05$). Namun, tidak terdapat pengaruh bermakna dari interaksi antar kedua variabel ini terhadap rasio hati ($p > 0,05$). Pemberian gambir terpurifikasi dengan dosis 5, 10 dan 20 mg/kgbb selama 14 hari menyebabkan penurunan nilai rasio organ hati pada hewan uji secara signifikan dibandingkan dengan hewan kontrol. Setelah pemberian gambir terpurifikasi dihentikan selama 7 hari, nilai rasio organ hati hewan uji kembali mengalami kenaikan yang signifikan, tetapi masih berada di bawah nilai kontrol (Tabel 2).

Tabel 2. Pengaruh pemberian gambir terpurifikasi dan waktu terhadap rasio organ hati tikus putih betina

Dosis (mg/kgbb)	Rasio organ hati pada hari ke- $\pm (x10^{-2}) \pm SE$				Rata-rata $\pm SE$
	0	8	15	22	
Kontrol	4,20 \pm 0,2	4,20 \pm 0,2	4,20 \pm 0,2	4,20 \pm 0,2	4,20 \pm 0,1 ^q
5	4,20 \pm 0,2	3,70 \pm 0,2	4,00 \pm 0,2	4,00 \pm 0,2	3,80 \pm 0,1 ^p
10	4,20 \pm 0,2	3,30 \pm 0,2	4,00 \pm 0,2	4,00 \pm 0,2	3,70 \pm 0,1 ^p
20	4,20 \pm 0,2	3,70 \pm 0,2	3,90 \pm 0,2	3,90 \pm 0,2	3,70 \pm 0,1 ^p
Rata-rata $\pm SE$	4,20 \pm 0,1 ^c	3,70 \pm 0,1 ^b	4,00 \pm 0,1 ^c	4,00 \pm 0,1 ^b	

Pembahasan

Pada gambaran mikroskopis hati terlihat hepatosit yang mengalami perubahan dari bentuk normalnya. Hewan yang diberi gambir terpurifikasi dengan dosis 5, 10 dan 20 mg/kgbb menunjukkan perubahan sel hati berupa degenerasi parenkimatosia, degenerasi hidropik dan nekrosis. Tipe kerusakan sel yang umum terjadi setelah pemberian gambir terpurifikasi selama 14 hari adalah degenerasi parenkimatosia. Kerusakan ini merupakan kerusakan yang paling ringan dan bersifat reversibel. Selain itu, juga terjadi peningkatan jumlah sel yang mengalami nekrosis pada hewan uji setelah pemberian gambir selama 14 hari dibandingkan dengan hewan kontrol. Pada penelitian ini, pada kelompok kontrol turut terjadi nekrosis. Hal ini adalah hal yang wajar, karena adanya kerusakan reversibel bahkan nekrosis pada sel hati tidak selalu merupakan kondisi patologis. Wardalena (2010) menyatakan bahwa pada kelompok kontrol sekalipun bisa saja terdapat sel yang mengalami nekrosis, namun tidak termasuk dalam kejadian patologi karena dalam keadaan normal nekrosis dan kerusakan reversibel lain pun juga dapat terjadi (Wardanela, 2008). Banyak faktor eksternal yang dapat memicu terjadinya kerusakan sel, seperti trauma mekanis, perubahan suhu dan tekanan, radiasi, serta reaksi imunologis melawan pathogen (Fitzpatrick & Gordon, 2018).

Obat paten Catergen dengan zat aktif katekin ditarik dari pasaran pada tahun 1985 karena toksisitasnya terhadap darah. Catergen menyebabkan anemia hemolitik imun pada

pasien yang menggunakannya. Diketahui mekanismenya dimulai dengan adsorpsi obat ke sel darah merah mengubah antigen sel darah merah normal sehingga tidak dikenali sebagai obat menyebabkan IgG berkumpul dan menempel pada sel darah merah. Kemudian obat menstimulasi antibodi terhadap protein membrane sel darah merah yang menyebabkan sel darah merah hancur (lisis) (Garratty, 2010).

Saat aktivitas sum-sum tulang tidak dapat mengkompensasi hilangnya sel darah merah, maka terjadilah anemia. Hancurnya sel darah merah secara prematur menyebabkan kurangnya jumlah sel darah merah pembawa oksigen dalam sirkulasi. Sel-sel tubuh memiliki mekanisme adaptasi terhadap perubahan lingkungan yang terjadi, termasuk hipoksia (suplai oksigen yang tidak memadai). Menurut Kumar *et al.* (2010), ada 2 macam respon sel terhadap keadaan hipoksia, yaitu pembengkakan sel dan nekrosis. Keadaan hipoksia akut dan sementara menyebabkan perubahan reversibel pada sel, yaitu pembengkakan sel, sedangkan hipoksia progresif dan berat menyebabkan perubahan *irreversible* yaitu nekrosis (Kumar, Abbas, Fausto, & Aster, 2010). Pada penelitian ini terlihat peningkatan jumlah sel yang membengkak (degenerasi parenkimatososa dan degenerasi hidropik) dan nekrosis pada tikus yang menerima gambir terpurifikasi dibandingkan dengan tikus kontrol. Kerusakan hati hewan uji yang terjadi pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh efek toksik katekin yang terkandung dalam gambir terpurifikasi, sama halnya dengan efek toksik catergen dengan mekanisme yang telah dijelaskan di atas.

Penurunan nilai rasio organ hati ini mengindikasikan terjadinya kerusakan pada sel hati, hal ini sesuai dengan hasil skor histopatologi hati yang mengalami peningkatan. Gejala dari parameter ini adalah nilai rasio organ hati yang mengalami penurunan, sedangkan kerusakan yang paling umum terjadi pada pemeriksaan histopatologi hati adalah tipe degenerasi parenkimatososa yaitu pembengkakan sel yang semestinya menyebabkan kenaikan pada nilai rasio organ hati. Setelah dilakukan penelusuran lebih lanjut, ternyata terjadi peningkatan berat badan hewan uji yang diberi gambir terpurifikasi dosis 5, 10 dan 20 mg/kgbb dibandingkan hewan kontrol. Peningkatan berat badan hewan akan menyebabkan terjadinya penurunan pada nilai rasio organ (W, Djaelani, & Suprihatin, 2011).

Berdasarkan hasil pengamatan pada kedua parameter, didapatkan hasil bahwa pemberian gambir terpurifikasi meningkatkan nilai kerusakan histopatologi hati dan menurunkan nilai rasio organ hati tikus putih betina, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian gambir terpurifikasi bersifat toksik pada organ hati tikus putih betina yang dilihat secara histologi terutama setelah penggunaan selama 14 hari. Tetapi kerusakan yang ditimbulkan bersifat reversibel, dapat terlihat dari penurunan nilai kerusakan histopatologi

hati dan peningkatan nilai rasio organ hati setelah pemberian gambir terpurifikasi dihentikan selama 7 hari. Namun kedepannya, diharapkan dapat dilakukan pengamatan dengan waktu yang lebih panjang untuk melihat sifat reversible kerusakan tersebut, dimana yang merupakan keterbatasan penelitian ini dengan waktu pengamatan yang cukup singkat.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai bahwa pemberian gambir terpurifikasi pada dosis 5 mg/kgbb, 10 mg/kgbb dan 20 mg/kgbb menyebabkan kerusakan pada hati secara histologi jika digunakan dalam jangka waktu 14 hari. Namun, kerusakan yang ditimbulkan bersifat reversibel setelah pemberian gambir dihentikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Armenia, Permatasari, D., Sinamar, L. P., Estera, K., & Ahmadin, A. (2021). The impact of sub acute administration of purified gambier (*Uncaria gambir roxb.*) to the liver and kidney functions and its reversibility on rats. *Pharmacognosy Journal*, 13(1), 44–51. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.7>
- B POM RI. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014. , Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara in Vivo § (2014).
- Departemen Kesehatan RI. (2007). *Kebijakan Obat Nasional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dhalimi, A. (2006). Permasalahan Gambir (*Uncaria gambir L.*) di Sumatera Barat dan Alternatif Pemecahannya. *Perspektif*, 5(1), 46–59.
- Fitzpatrick, S. G., & Gordon, S. C. (2018). *Cell Injury , Adaptation , and Necrosis*. 83–98.
- Garratty, G. (2010). Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. *Blood Reviews*, 24(4–5), 143–150. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2010.06.004>
- Isnawati, A., Raini, M., Sampurno, O. D., D.Mutiaticum, Widowati, L., & Gitawati, R. (2012). Karakterisasi Tiga Jenis Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir Roxb*) dari Sumatra Barat (Characterization of Three Types of Gambir Extract (*Uncaria gambir Roxb*) from West Sumatra). *Bulletin Penelitian Kesehatan*, 40(4), 201–208.
- Kumar, V., Abbas, A., Fausto, N., & Aster, J. (2010). *Pathologic Basic of Disease* (8th Editio). Philadelphia, USA: Saunders Elsevier.
- Sari, G. P. (2010). Uji Efek Analgetik dan Antiinflamasi Ekstrak Kering Air Gambir secara In Vivo. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.

- Silalahi, M., Nisyawati, Walujo, E. B., Supriatna, J., & Mangunwardoyo, W. (2015). The local knowledge of medicinal plants trader and diversity of medicinal plants in the Kabanjahe traditional market, North Sumatra, Indonesia. *Journal of Ethnopharmacology*, 175, 432–443. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.009>
- W, A. N., Djaelani, M. A., & Suprihatin, T. (2011). Rasio Bobot Hepar-Tubuh Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Diazepam, Formalin, dan Minuman Beralkohol. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, XIX(1), 16–27.
- Wardanela, M. (2008). *Studi Histopatologi Pengaruh Pemberian Enterobacter sakazakii pada Mencit (Mus musculus) Neonatus*. Institut Pertanian Bandung.