

LAPORAN HASIL PENELITIAN RISET DASAR PENGEMBANGAN DOSEN
DANA DIPA FAKULTAS FARMASI TAHUN 2020



UJI TOKSISITAS SUB AKUT GAMBIR TERPURIFIKASI
(*Uncaria gambir* Roxb.) TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN
FUNGSI HATI TIKUS PUTIH DAN REVERSIBILITASNYA

Oleh :

1. Prof. Dr. Armenia, M.S., Apt. (0009045910) (Ketua)
2. Prof. Dr. Almahdy, A., M.S., Apt. (0026015806) (Anggota)
3. Dita Permatasari, M.Farm., Apt. (0001119203) (Anggota)
4. Lathifah Putri Sinamar (Anggota)
5. Keke Estera (Anggota)

Penelitian ini Dibiayai oleh
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS ANDALAS
Sesuai dengan SK Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Nomor : 30/XIII/D/DPPD/FFARMASI-2020
Tahun Anggaran 2020

HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN RISET DASAR PENGEMBANGAN DOSEN

Judul Penelitian : Uji Toksisitas Sub Akut Gambir Terpurifikasi (*Uncaria gambir Roxb.*) Terhadap Fungsi Ginjal Dan Fungsi Hati Tikus Putih Dan Reversibilitasnya

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 402/ Farmakologi dan Farmasi Klinik

Ketua Peneliti:

a. Nama Lengkap : Prof. Dr. Armenia, M.S., Apt.
b. NIDN : 0009045910
c. Jabatan Fungsional : Guru Besar
d. Program Studi : Farmasi

Anggota Peneliti 1

a. Nama Lengkap : Prof. Dr. Almahdy, A., M.S., Apt.
b. NIDN : 0026015806
c. Jabatan Fungsional : Guru Besar
d. Program Studi : Farmasi

Anggota peneliti 2

a. Nama Lengkap : Dita Permatasari, M.Farm., Apt.
b. NIDN : 0001119203
c. Program Studi : Farmasi

Anggota peneliti 3

a. Nama Lengkap : Lathifah Putri Sinamar
b. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

Anggota peneliti 4

a. Nama Lengkap : Keke Estera
b. Perguruan Tinggi : Universitas Andalas

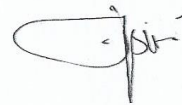
Biaya Penelitian : Rp. 24.000.000

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Andalas



Lili Fitriani, M. Pharm. Sc, Apt
NIP. 198507172009122003

Padang, Juli 2020
Ketua Peneliti,



Prof. Dr. Armenia, M.S., Apt.
NIP. 195904091987032001

RINGKASAN

Gambir terpurifikasi merupakan hasil ekstrak dari tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) yang mengandung >90% katekin. Secara tradisional, masyarakat telah menggunakan tanaman gambir untuk pengobatan mandiri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keamanan gambir terpurifikasi terhadap fungsi ginjal dan fungsi hati. Hewan dibagi menjadi 4 kelompok utama yang terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok yang diberi larutan dengan dosis 5, 10, 20 mg/kg. Larutan gambir terpurifikasi diberikan secara oral selama 14 hari. Volume urin 24 jam, volume konsumsi air 24 jam, bersihan kreatinin, berat jenis urin, aktivitas ALT, aktivitas ALP, rasio ginjal dan hati hewan diukur pada hari ke-1,7,14 dan 21. Data dianalisis menggunakan ANOVA dua arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan (kebermaknaan diambil pada $p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa volume urin 24 jam, volume konsumsi air 24 jam, bersihan kreatinin, aktivitas ALP dan rasio ginjal tidak dipengaruhi secara signifikan ($P > 0,05$) oleh dosis dan lama pemberian sediaan kecuali berat jenis hewan uji, aktivitas ALT dan rasio hati. Terjadi peningkatan berat jenis urin hewan uji pada saat pemberian sediaan dihentikan dan penurunan aktivitas ALT dan rasio hati setelah pemberian sediaan dihentikan. Fungsi ginjal hewan uji mengalami kenaikan lebih dari rentang normal ($> 100\%$) pada saat pemberian sediaan uji dihentikan yang menandakan bahwa adanya potensi terjadinya kerusakan fungsi ginjal. Aktivitas ALT dan ALP tidak mengalami perubahan secara nyata walaupun gambir terpurifikasi sudah dihentikan, sedangkan rasio organ hati mengalami peningkatan yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa gambir terpurifikasi berpotensi toksik terhadap fungsi ginjal dan relative tidak toksik terhadap fungsi hati.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi dengan judul "Uji Toksisitas Subakut Gambir Terpurifikasi (*Uncaria gambir* Roxb.) Terhadap Fungsi Ginjal dan Fungsi Hati Tikus Putih dan Reversibilitasnya". Shalawat tidak lupa juga penulis sampaikan kepada Nabi Muhammad SAW. Penulisan dan pembuatan skripsi ini tidak lepas dari do'a, bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. apt. Fatma Sri Wahyuni, S. Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian.
2. Bapak Prof. apt. Helmi Arifin, MS, Ph.D selaku Kepala Laboratorium Farmakologi yang memberikan persetujuan untuk melakukan penelitian ini.
3. Serta semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

Atas bantuan yang diberikan semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada semua pihak yang telah membantu penulis, Aamiin. Akhirnya penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk kita semua dan untuk perkembangan ilmu pengetahuan.

Padang, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	3
KATA PENGANTAR	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR TABEL	6
DAFTAR GAMBAR	7
BAB I. PENDAHULUAN	8
1.1 Latar Belakang	8
1.2 Rumusan Masalah	10
1.3 Tujuan Penelitian	10
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 Tumbuhan Gambir	11
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan	11
2.1.2 Khasiat Tumbuhan dan Bioaktivitas	12
2.2 Gambir Terpurifikasi	14
2.3 Toksisitas dan Keamanan Gambir	15
2.4 Uji Toksisitas	16
BAB III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.1 Alat	18
3.2.2 Bahan	18
3.2.3 Hewan Uji	19
3.3 Prosedur Kerja	19
3.3.1 Penyiapan Hewan Uji	19
3.3.2 Perencanaan Dosis Gambir Terpurifikasi dan Penyiapan Sediaan Uji	19
3.3.3 Uji Pengaruh Gambir Terpurifikasi terhadap Fungsi Ginjal dan Fungsi Hati dan Reversibilitasnya pada Tikus Putih	19
3.4 Analisis Data	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sertifikat Analisis Gambir Terpurifikasi.....	14
Tabel 4.2 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap volume konsumsi air minum 24 jam tikus putih.....	27
Tabel 4.3 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap nilai bersihan kreatinin tikus putih	28
Tabel 4.4 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap persentase fungsi ginjal tikus putih	29
Tabel 4.5 Tabel pengaruh gambir terpurifikasi terhadap aktivitas ALT rata-rata (IU/L) pada pemberian selama 14 hari dan reversibilitasnya	31
Tabel 4.6 Tabel pengaruh gambir terpurifikasi terhadap aktivitas ALP rata-rata (IU/L) pada pemberian selama 14 hari dan reversibilitasnya	33
Tabel 4.7 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap rasio ginjal tikus putih	34
Tabel 4.8 Tabel pengaruh gambir terpurifikasi terhadap rasio organ hati pada pemberian selama 14 hari dan reversibilitasnya	36
Tabel 4.9 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji berat jenis urin tikus putih.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Tumbuhan Gambir (<i>Uncaria gambir Roxb.</i>) dan Simplisia Gambir.....	11
Gambar 2.1 Struktur Gambir	12
Gambar 4.3 Grafik pengaruh dosis dan lama perlakuan terhadap nilai bersihan kreatinin.....	28
Gambar 4.4 Grafik hubungan antara aktivitas ALT (IU/L) terhadap dosis dan waktu pemberian gambir terpurifikasi.....	31
Gambar 4.5 Grafik hubungan antara aktivitas ALP (IU/L) terhadap dosis dan waktu pemberian gambir terpurifikasi.....	33
Gambar 4.6. Grafik pengaruh dosis dan lama pemberian terhadap rasio ginjal tikus putih	35
Gambar 4.7 Grafik hubungan antara rasio organ hati rata-rata terhadap dosis dan waktu pemberian gambir terpurifikasi.....	36
Gambar 4.8 Grafik pengaruh dosis dan lama pemberian terhadap berat jenis urin tikus putih	38

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan flora dan fauna. Keragaman tanaman yang ada di Indonesia memiliki potensi yang tinggi untuk dijadikan obat herbal. Dini ini, penggunaan bahan alam sebagai obat herbal atau tujuan lain cenderung meningkat terlebih dengan isu “back to nature”. Penggunaan obat herbal ini ditujukan sebagai upaya pencegahan penyakit (preventif), penyembuhan (kuratif), pemulihan (rehabilitatif), serta peningkatan kesehatan (promotif) (1).

Salah satu tanaman yang sedang dikembangkan untuk menjadi tanaman obat herbal adalah tanaman gambir. Tanaman ini tersebar di Aceh, Sumatera Utara, Riau, Sumatera Barat, Bangka, Belitung, dan Kalimantan Barat (2). Di Sumatera barat tanaman ini tidak menyebar diseluruh wilayah, hanya ditemukan pada kabupaten Lima Puluh Kota dan Pesisir Selatan. Akhir-akhir ini sering ditemukan di Tanah datar, Pariaman, Sawahlunto, Pasaman dan Solok (3).

Secara tradisional masyarakat telah menggunakan gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai obat luka bakar, obat sakit kepala, rebusan daun muda dan tunasnya digunakan sebagai obat diare dan disentri, obat kumur-kumur untuk sakit tenggorokan (3). Selain itu, gambir juga digunakan sebagai insektisida nabati, penjernih bir dan bahan dalam industri farmasi (4). Secara kimia, ekstrak gambir memiliki potensi seperti sebagai antibakteri, antinematoda, tukak lambung dan antioksidan yang mencegah terjadinya penyakit jantung dan hiperlipidemia (5).

Kandungan utama dalam ekstrak gambir yaitu katekin sebesar 7-33%, selain itu juga terdapat asam katechu tannat 20-55%, pyrocatechol 20-30%, gambir floresen 1-3%, katechu merah 3-5%, quersetin 2-4%, fixed oil 1-2%, dan wax 1-2% (5). Dari data kandungan kimia gambir ini, diyakini bahwa tanaman ini memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat herbal.

Beberapa penelitian terkait manfaat gambir telah dilakukan. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yunarto pada tahun 2015, fraksi etil asetat daun gambir dosis 20 mg/200g BB memiliki potensi yang baik untuk menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, LDL dan meningkatkan HDL dalam plasma darah tikus. HMG-CoA reduktase dihambat sehingga sintesis mevalonat dari HMG-CoA berkurang (6). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Anggraini pada tahun 2014 menyatakan bahwa katekin pada ekstrak gambir efektif sebagai

antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dimana hasil yang didapatkan adalah 92-93,1% efektif menangkap radikal sintetik (DPPH) pada konsentrasi katekin sebesar 99,4 hingga 108,5 µg /ml. (7)

Di lain pihak, pada tahun 1985 obat paten yang mengandung katekin yaitu Catergen® ditarik dari peredaran karena mengakibatkan imunohemolisis pada pasien yang menggunakannya (8). Pada dosis tertentu, katekin dan metabolitnya dapat berikatan dengan sel darah merah yang memungkinkan dihasilkannya autoantibodi sehingga menyebabkan anemia hemolitik dan gagal ginjal (9). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ningsih pada tahun 2017, mencit jantan dan betina diberikan formula herbal dari ekstrak gambir (*Uncaria gambir*) dan secang (*Caesalpinia sappan*) selama 7 minggu mengakibatkan lesi pada organ hati, ginjal dan jantung pada dosis 300mg/kgBB dan 1200mg/KgBB pada mencit jantan dan betina (10).

Selain itu, penelitian yang dilakukan Putri pada tahun 2013 tentang aktivitas renoprotektor dari gambir terstandarisasi meunjukkan bahwa gambir terstandarisasi pada dosis 5 mg/KgBB memperburuk fungsi ginjal dimana ditandai dengan penurunan persentase kreatinin serum dan perubahan bersihan kreatinin ke arah negatif. Dari penelitian-penelitian diatas diketahui bahwa katekin dan formula herbal dalam dosis tertentu dapat mengakibatkan efek yang tidak diinginkan (11).

Untuk pengembangan suatu obat terdapat tiga faktor yang harus dipenuhi yaitu safety, efficacy, quality. Oleh karena itu, diperlukan data keamanan obat herbal. Data tersebut mencakup uji toksistas secara umum, uji toksisitas khusus (pada organ tertentu) dan uji lainnya (uji teratogenik, karsinogenik dan mutagenik (12).

Selain itu, dalam Pidato Lustrum Farmasi Ke-XI, Dekan Fakultas farmasi Universitas Andalas, Prof.Dr. apt, Fatma Sri Wahyuni, M.si. menyatakan bahwa Fakultas Farmasi Universitas Andalas merupakan mega center penelitian gambir dan data keamanan gambir harus diteliti secara lengkap (13).

Oleh karena itu, penulis tertarik untuk melakukan penelitian ini untuk mengetahui toksisitas sub akut gambir terpurifikasi terhadap fungsi ginjal dan fungsi hati pada tikus putih dan reversibilitasnya. Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah volume urin 24 jam, volume minum, kadar kreatinin urin, kadar kreatinin serum, penentuan fungsi ginjal, berat jenis urin, aktivitas ALT, aktivitas ALP, rasio ginjal dan hati sehingga diketahui keamanan gambir terpurifikasi pada organ ginjal dan hati. Parameter- parameter tersebut dipilih untuk menentukan tingkat keparahan kerusakan fungsi ginjal dan fungsi hati. Melalui penelitian ini

didapatkan data keamanan gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir Roxb.*) sebagai data penunjang untuk pengembangan gambir terpurifikasi ini menjadi obat fitofarmaka.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir Roxb.*) bersifat toksik terhadap fungsi ginjal dan fungsi hati tikus putih yang diberikan dosis berganda ?
2. Apakah keadaan toksik pada fungsi ginjal dan fungsi hati tikus bersifat reversible? (bila terjadi)

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik dan keamanan pada fungsi ginjal dan fungsi hati dengan pemberian dosis berganda gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir Roxb.*) pada tikus putih, dan apabila terdapat efek toksik, apakah bersifat reversibel atau tidak.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Gambir

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan



Gambar 1.1 Tumbuhan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) dan Simplisia Gambir

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermathophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dikotiledon
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Uncaria
Species	: <i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.

2. 1. 2 Kandungan Kimia

Gambir merupakan tanaman dengan genus *Uncaria* tergolong dalam famili Rubiaceae adalah tanaman asli Indonesia. Gambir mengandung senyawa polifenol utama yaitu flavonoid dengan persentase (+) katekin yaitu sekitar 40-80% dari berat ekstrak air kering. Gambir memiliki efek antioksidan yang telah diverifikasi dalam beberapa uji in vitro.

Menurut Heitzman *et al.* (2005), gambir mengandung golongan polifenol seperti senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid dan senyawa polifenol lainnya. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang terbesar di alam. Komponen flavonoid yang terkandung dalam gambir antara lain *catechin* (7-33%), *pirocatechol* (20-30%) dan *quersetin* (2-4%).

Gambir mengandung zat utama yaitu katekin yang memiliki manfaat sebagai antioksidan. Kandungan fitokimia yang terdapat dalam gambir yaitu katekin 50%, pyrocatechol 20%-30%, gambirin 1%-3%, kateku merah 3%-5%, quersetin 2%-4%, lilin 1%-2%, alkaloid 2%-5%. Pada daun, kandungan katekin terdapat sebesar 40%-50%. Berdasarkan hasil analisis kualitatif gambir mengandung kuinon, terpenoid, alkaloid, tannin, flavonoid dan saponin. serta ekstrak daun gambir memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi 172,62 ppm.



Gambar 2.1 Struktur Gambir

2.1.2 Khasiat Tumbuhan dan Bioaktivitas

Secara tradisional, gambir digunakan sebagai pelengkap makan sirih dan obat-obatan seperti pada penyakit diare, obat kumur-kumur pada sakit kerongkongan dan obat luka bakar. Secara modern, gambir digunakan sebagai bahan baku industri farmasi dan makanan salah satu contohnya adalah bahan baku obat penyakit hati dengan paten “catergen” dan bahan baku permen di Jepang yang mampu menetralsisir nikotin..

Gambir mengandung katekin dan kuersetin yang berdasarkan penelitian dapat meringankan penyakit hepatitis. Katekin dapat menurunkan bilirubin serum pada semua jenis hepatitis. Katekin juga dapat meningkatkan klirens antibodi hepatitis dan menurunkan kadar enzim hati. Aktivitas antioksidan dari keatekin meningkatkan imun dan menstabilisasi membran.

Tumbuhan ini mempunyai aktivitas hepatoprotektif. Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak gambir terstandarisasi yang mengandung katekin tidak kurang dari 90% pada dosis 30, 100 dan 300 mg/kgBB berhasil menurunkan berat rasio organ hati pada mencit betina yang telah diinduksi CCl₄. Pada dosis 30 mg/kgBB ekstrak tersebut juga berhasil menurunkan level SGOT dan SGPT. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis yang lebih besar aktivitas hepatoprotektornya akan berkurang..

Ekstrak gambir memiliki potensi terapi gastroprotektif karena dapat memberikan efek penurunan lesi mukosa lambung secara signifikan pada tikus yang diinduksi dengan etanol 96%. Selain itu, ekstrak gambir juga memiliki aktivitas antiparkinson karena mampu menurunkan kekakuan otot pada tikus putih dengan dosis pemberian 70, 140 dan 280 mg/kgB. Penurunan kekakuan otot karena gambir mempunyai kandungan katekin yang dapat menembus sawar darah otak dan dapat mencegah terjadinya stres oksidatif yang di induksi haloperidol.

Ekstrak kering gambir memiliki efek antiinflamasi pada dosis 3,5 mg/200gBB, 7 mg/ 200gBB dan 14 mg/ 200gBB. Uji antiinflamasi dilakukan dengan metode *Rat hind paw*(pembentukan radang) pada tikus putih betina yang diinduksi dengan karagenan. Selain itu, juga dilakukan uji aktivitas analgetik yang hasilnya pada dosis 1,4 mg/ 200gBB ekstrak kering gambir memiliki efek analgetik. Uji ini dilakukan dengan metode geliat pada mencit putih jantan yang sebelumnya diinduksi dengan asam mefenamat.

Penelitian lain menunjukkan bahwa tumbuhan gambir memiliki efek sebagai antioksidan. Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Penelitian ini membandingkan waktu reaksi 2 menit dan 30 menit. Waktu reaksi 30 menit lebih direkomendasikan karena gambir memiliki aktivitas antioksidan lambat. Aktivitas antioksidan tertinggi yaitu pada konsentrasi 3-5 mg/ml yaitu sebesar 92-93,1% . Selain itu, ekstrak gambir tidak menunjukkan efek negatif pada IEC-6 dimana terdapat lebih dari 93% sel hidup pada konsentrasi 1-200 µg/ml.

Selain itu, ekstrak daun gambir terpurifikasi menunjukkan aktivitas antiaterosklerosis pada tikus. Pada dosis 20 mg/gBB, 40mg/gBB dan 80 mg/gBB ekstrak tersebut mempunyai kemampuan untuk mencegah aterosklerosis dengan cara menghambat penebalan pada dinding sel aorta. Ekstrak terpurifikasi ini mampu mencegah pembentukan sel foam pada aorta tikus. Hal ini dibuktikan dari observasi

mikroskopik dengan perbesaran 400x dapat dilihat dengan jelas sel foam dan semakin tinggi dosisnya semakin bagus dalam menurunkan pembentukan sel foam. Menurut yang koo, katekin memiliki aktivitas untuk menurunkan jumlah produk peroksidasi lipid dan mampu menghambat oksidasi LDL di endotelium.

2.2 Gambir Terpurifikasi

Gambir terpurifikasi adalah gambir yang mengandung $\geq 90\%$ katekin. Dibawah ini adalah sertifikat analisis gambir terpurifikasi yang terlihat pada Tabel 2.1 (25).

Tabel 2.1 Sertifikat Analisis Gambir Terpurifikasi

Pengujian	Metode	Unit	Spesifikasi Persyaratan	Hasil
Warna	SNI 01-3391-2000		Cokelat muda sampai cokelat kekuningan	Cokelat muda
Bentuk	SNI 01-3391-2000			Serbuk
Kadar (+) - Catechin	SNI 01-3391-2000 Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Min 60% Min 90%	91,8%
Kadar air	SNI 01-3391-2000 dan SNI 01-2891-1992 Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 14% Maks 14%	9,1%
Kadar abu	Farmakope Herbal Indonesia Ed. I	%	Maks 0,5%	0,3%
Kadar abu	Farmakope Herbal	%	Maks 0,1%	0,07%

tidak larut asam	Indonesia Ed. I			
Bahan air tidak larut air	SNI 01-3391-2000	%	Maks 7%	0,4%
Bahan tak larut alkohol	SNI 01-3391-2000	%	Maks 12%	0,2%

2.3 Toksisitas dan Keamanan Gambir

Penelitian mengenai toksisitas akut oral yang dilakukan oleh Ainun (2019) tentang toksisitas isolat katekin dari gambir melaporkan bahwa metode uji yang dilakukan dengan menggunakan OECD 425 Up and Down Procedure, dengan dosis yang diberikan pada hewan uji yaitu 5000 mg/kg kepada mencit kontrol normal yang diberikan Na CMC 0,5% dilanjutkan dengan mengamati tanda-tanda toksisitas selama 14 hari, terutama 2 hari pertama dengan pengamatan khusus pada 4 jam pertama setiap 30 menit. Selanjutnya dilakukan identifikasi secara makroskopik dan mikroskopik (histopatologi) pada organ hati, lambung dan ginjal. Pada hasil pemeriksaan ini menunjukkan bahwa pemberian isolat katekin pada dosis 5000 mg/kg tidak menunjukkan efek toksik pada hewan uji. Nilai LD50 di tentukan dengan menggunakan AOT425Statpgm dan menghasilkan nilai LD50 toksisitas akut oral besar dari 5000 mg/kg yang termasuk kedalam kategori praktis tidak toksik. Pada penelitian ini tidak ditemukan tanda-tanda toksisitas secara makroskopik maupun mikroskopik pada organ hati dan lambung tetapi ditemukan atrofi glomerulus pada organ ginjal.

Penelitian yang dilakukan oleh Bachtiar et al melaporkan bahwa uji toksisitas akut dari ekstrak gambir terstandarisasi dengan dosis gambir yang diberikan pada konsentrasi 1; 2; 4; 8 dan 15 g/kgbb yang kemudian diamati selama 24 jam tidak menunjukkan kematian dari 50% populasi mencit jantan dan betina. Selanjutnya, penelitian yang dilakukan oleh Lestari (2012) melaporkan bahwa ekstrak kering gambir memiliki efek toksik dengan nilai LD50 yaitu 7127,17 mg/KgBB yang menyebabkan gambir

diklasifikasikan dalam kategori sedikit toksik. Pemeriksaan histopatologi menunjukkan adanya perubahan selular organ ginjal, hati, dan usus pada semua tingkatan dosis dan selular lambung pada dosis 4000 mg/KgBB, 8000 mg/KgBB, dan 16000 mg/KgBB.

Menurut Katno (2008) tanaman obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan mempertimbangkan enam aspek ketepatan salah satunya tepat takaran atau dosis. Selain itu diduga adanya efek berlawanan antara antioksidan pada katekin dengan asam lemak yang terdapat dalam gambir. Sehingga jika gambir digunakan dengan dosis tinggi justru akan mengurangi efektifitas kerja antioksidan karena komposisi asam lemak yang juga tinggi. Ada tiga kombinasi efek kandungan kimia dalam obat tradisional, salah satunya adalah efek kontraindikasi yang mana senyawa aktif dalam obat memiliki efek yang berlawanan dalam dosis tertentu.

Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Putri, menyatakan bahwa gambir terstandarisasi pada dosis 10 mg/KgBB dapat memperbaiki fungsi ginjal. Pemberian gambir terstandarisasi ini dilakukan selama 8 hari dengan dosis 2,5 mg/KgBB, 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB. Namun, pada kelompok uji dengan dosis 5 mg/KgBB mengalami penurunan fungsi ginjal yang ditandai dengan perubahan kreatinin serum dan bersihan kreatinin ke arah negatif.

Di lain sisi, pada tahun 1985, Catergen[®] yang merupakan sediaan yang mengandung katekin ditarik dari pasar karena mengakibatkan imuno-hemolisis pada pasien yang menggunakannya. Diketahui bahwa katekin pada dosis tertentu dapat berikatan dengan sel darah merah yang memungkinkan dihasilkannya antibodi sehingga mengakibatkan anemia hemolitik dan gagal ginjal.

2.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas terbagi atas 4 bagian yaitu uji toksisitas akut, uji toksisitas sub akut, uji toksisitas kronis dan uji toksisitas sub kronis. Uji toksisitas akut adalah efek toksik yang terjadi singkat setelah paparan bahan kimia diberikan. Efek toksik dapat berkembang secara cepat setelah pemberian bahan kimia dengan dosis tunggal atau ganda.

Uji toksisitas sub akut adalah dimana dilakukan paparan bahan kimia selama 1 bulan atau kurang sedangkan uji toksisitas sub kronis selama 1 hingga 3 bulan. Uji toksisitas bisa dilakukan dari semua rute pemberian obat namun paling sering melalui rute oral. Tujuan

dari uji toksisitas subakut adalah untuk mengetahui informasi tentang toksisitas bahan kimia setelah pemberian berulang sebagai panduan untuk menetapkan dosis untuk uji sub kronik. Biasanya terdiri dari 3 hingga 4 perbedaan dosis pada setiap kelompok hewan uji.

Hubungan antara dosis dan respon yang dihasilkan merupakan parameter penting dalam studi toksikologi. Ada dua jenis hubungan dosis dan respon yaitu hubungan dosis-respon kuantitatif dan hubungan dosis-respon bertingkat/variabel. Pada hubungan dosis-respon kuantitatif yang dinilai adalah kematian dari hewan uji berupa semua hewan uji mengalami kematian atau tidak sama sekali. Sedangkan pada hubungan dosis-respon bertingkat atau variabel yang dinilai adalah perubahan efek yang berkelanjutan seiring dengan meningkatnya dosis(26). Beberapa parameter yang perlu diperhatikan dalam penelitian ini yaitu jumlah kematian, perilaku, berat badan, konsumsi air dan makanan, uji hematologis, uji kimia klinis dan berat organ. Uji toksisitas kronis adalah efek toksik yang terjadi setelah paparan bahan kimia berulang kali dalam waktu yang cukup panjang (berbulan-bulan). Uji ini dilakukan untuk mendeteksi efek toksik spesifik seperti karsinogenitas suatu bahan kimia yang dapat menjangkau sebagian besar masa hidup tikus yaitu hingga 2 tahun.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah gelas ukur, pipa kapiler, timbangan analitik, timbangan hewan, kandang metabolit, alat penampung urin, sonde, pipet tetes, spatel, erlenmeyer, beker glass, alat bedah (pisau, gunting dan pinset), tempat makan dan minum tikus, rak dan tabung serum, pipet mikro, *microtube*, sentrifuge, Fotometer 5010 V5+.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah suspensi gambir terpurifikasi, aquadest, makanan standar tikus, reagen kreatinin, reagen ALP dan reagen ALT.

Tabel 3.1 Komposisi reagen kreatinin (Greiner®)

No.	Reagen I	Reagen II
1	Natrium Hidroksida 160 mmol/L	Asam Pikrat 4,0 mmol/L
2	-	Standar kreatinin 2 mg/dl

Tabel 3.2 Komposisi reagen kit ALT dan ALP

No	ALT Kit DiaSys®	ALP Kit DiaSys®
Reagen I		Reagen I
1	TRIS pH 7,15: 140 mmol/L	Diethanolamine pH 9,8 : 1,2 mmol/L
2	L-alanin : 700 mmol/L	Magnesium Chloride : 0,6 mmol/L
3	LDH: ≥ 2300 U/L	

No	ALT Kit DiaSys®	ALP Kit DiaSys®
Reagen II		Reagen II
1	2-Oksoglutarat : 85 mmol/L	p-Nitrophenylphosphate : 50 mmol/L
2	NADH : 1 mmol	

3.2.3 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar yang berumur $\pm 2-3$ bulan dengan berat badan 200-250 gram sebanyak 30 ekor. Hewan ini belum pernah digunakan untuk percobaan serta menunjukkan perilaku normal.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur wistar (200–250 g) diberi makanan dan minuman. Telah diaklimatisasi satu minggu sebelum dipelajari. Perawatan hewan uji yang akan digunakan, disesuaikan dengan pedoman standar. Hewan yang digunakan adalah hewan yang dalam keadaan sehat, mempunyai tingkah laku normal dan tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10%.

3.3.2 Perencanaan Dosis Gambir Terpurifikasi dan Penyiapan Sediaan Uji

Dosis yang diberikan pada hewan uji adalah larutan gambir terpurifikasi 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 20 mg/kgBB dalam air panas dengan volume penyuntikan 1% dari berat badan tikus. Hal ini sesuai dengan rumus:

$$VAO = \frac{BB \times Dosis}{[D]}$$

Gambir terpurifikasi diberikan secara oral sebanyak satu kali sehari kurang lebih setiap pukul ± 09.00 WIB selama 14 hari, kemudian dosis dihentikan selama 7 hari berikutnya untuk mengamati efek reversibilitas.

3.3.3 Uji Pengaruh Gambir Terpurifikasi terhadap Fungsi Ginjal dan Fungsi Hati dan Reversibilitasnya pada Tikus Putih

Tikus putih betina digunakan sebanyak 30 ekor. Kelompok hewan terdiri dari kelompok hewan A, B, C dan K. Kelompok A (Perlakuan I) berjumlah 9 ekor tikus putih betina yang diberi gambir terpurifikasi 5 mg/kgBB. Kelompok B (Perlakuan II) berjumlah 9 ekor tikus putih betina yang diberi gambir terpurifikasi 10 mg/kgBB. Kelompok C (Perlakuan III) berjumlah 9 ekor tikus putih betina yang diberi gambir terpurifikasi 20 mg/kgBB. Kelompok K (kontrol) berjumlah 3 ekor tikus putih betina yang hanya diberikan air biasa. Pemberian gambir terpurifikasi dilakukan satu kali sehari selama 14 hari secara oral setiap pukul ± 09.00 pagi. Kemudian pemberian gambir terpurifikasi dihentikan selama 7 hari untuk mengamati reversibilitas.

Parameter volume urin, volume konsumsi minum dan hewan dikorbankan diambil darahnya pada hari ke 1,7,14 dan 21. Setiap pengambilan darah dilakukan dengan mengorbankan 3 tikus pada setiap kelompok. Darah ditampung dalam tabung reaksi dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm hingga membentuk 2 lapisan (larutan jernih dan larutan endapan). Larutan jernih (serum) dipipet menggunakan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam *micro tube*, kemudian serum disimpan dalam freezer dan digunakan untuk penentuan kadar kreatinin serum, ALT dan ALP. Selanjutnya organ ginjal dan hati tikus diambil, dibersihkan, dikeringkan dan ditimbang untuk menentukan rasio organnya. Beberapa parameter yang diamati :

1. Pengukuran Volume Urin 24 jam

Pengukuran volume urin tikus putih jantan dilakukan dengan cara menampung urin yang dikeluarkan oleh tikus dengan plastik lalu mengukurnya dengan gelas ukur.

2. Pengukuran Volume Konsumsi Air 24 jam

Pengukuran volume konsumsi air minum tikus selama 24 jam dilakukan dengan cara memberikan air minum pada tikus dalam volume tertentu. Setelah 24 jam, volume yang dikonsumsi dikalkulasikan dengan cara mengurangi volume awal sebelum pemberian dengan volume akhir setelah pemberian 24 jam.

3. Pengukuran Kadar Kreatinin Serum

Pengambilan darah tikus diambil melalui leher tikus yaitu melalui vena karotid pada leher tikus. Darah ditampung dalam tabung reaksi dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm hingga terbentuk dua lapisan (larutan jernih dan larutan endapan). Larutan jernih (Serum) dipipet dengan menggunakan pipet mikro dan dimasukkan dalam *microtube*. Pengukuran kadar kreatinin serum dilakukan dengan cara sebagai berikut : Reagen 1 dipipet sebanyak 1 ml dan ditambahkan reagen 2 sebanyak 1 ml lalu campuran reagen 1 dan 2 dipipet sebanyak 1 ml dipindahkan ke tabung reaksi yang lain. Serum dipipet sebanyak 50 μ l, dan serum dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi campuran reagen 1 dan 2, lalu diukur kadar kreatinin serumnya dengan menggunakan fotometer 5010 V5+ (14).

4. Pengukuran Kadar Kreatinin Urin

Langkah-langkah untuk pengukuran kadar kreatinin urin sama dengan langkah untuk pengukuran kadar kreatinin serum. Namun, sebelum urin dicampurkan dengan reagen, urin diencerkan terlebih dahulu dengan aquadest (1:20) dalam labu ukur (14).

5. Pencatatan Bersihan Kreatinin

Bersihan kreatinin dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan (15):

$$Crcl = \frac{Ucr \times Vu}{Scr \times t}$$

Keterangan :

- Crcl : Bersihan Kreatinin (ml/menit)
- Ucr : Kadar kreatinin dalam urin (mg/dl)
- Vu : Volume urin selama 24 jam (ml)
- Scr : Kadar kreatinin dalam serum (mg/dl)
- t : Waktu (1440 menit)

6. Penentuan Persentase Fungsi Ginjal

Persentase fungsi ginjal dapat dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$RF = \frac{Crcl P}{Crcl K} \times 100\%$$

Keterangan :

- RF : Fungsi Ginjal (%)
- Crcl P : Bersihan kreatinin perlakuan (ml/menit)
- Crcl K : Bersihan kreatinin kontrol (ml/menit)

7. Penentuan Rasio Ginjal

Perhitungan rasio ginjal dengan rumus :

$$Rasio\ Ginjal = \frac{Bobot\ organ\ absolut}{Bobot\ berat\ badan} \times 100\%$$

8. Penentuan Berat Jenis Urin

Penentuan berat jenis urin dilakukan dengan metode penimbangan karena sampel urin yang didapatkan sedikit. Rumus yang digunakan untuk menghitung berat jenis urin adalah :

$$\rho = \frac{(\text{gelas ukur berisi}) - (\text{gelas ukur kosong})}{\text{Volume Urin (mL)}}$$

9. Perhitungan Rasio Organ Hati

Organ hati yang akan diambil dari tikus harus dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap, kemudian segera ditimbang untuk mendapatkan bobot organ absolut (16). Bobot organ relatif dapat diperoleh dengan rumus berikut:

$$\text{Bobot organ} = \frac{\text{bobot organ absolut}}{\text{bobot badan}}$$

10. Pemeriksaan Aktivitas ALT

1. Penyiapan monoreagent

Campurkan 4 bagian reagen 1 dengan 1 bagian reagen 2 (1200 μL reagen 1 + 300 μL reagen 2) = monoreagent

2. Pengujian aktivitas ALT

Sebanyak 100 μL serum dan 1000 μL monoreagent dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk dihomogenkan selama 1 menit. Kemudian langsung diukur absorbannya menggunakan fotometer 5010 v5+ tepat setelah menit ke 1 pada panjang gelombang 340 nm. Setelah sebelumnya nilai blanko diuji. Aktivitas ALT dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi sampel per menit dibagi rata-rata kalibrator dikalikan faktor 1745 (17).

$$\text{ALT [U/L]} = \Delta A/\text{min} \times \text{factor}$$

Keterangan:

$\Delta A / \text{Menit}$ = Perubahan absorbansi rata-rata per menit.

$$\Delta A / \text{Menit} = \frac{(\text{Abs samp 2} - \text{abs samp 1}) + (\text{abs samp 3} - \text{abs samp 2})}{2}$$

Abs samp 1 :absorbansi sampel pada menit pertama

Abs samp 2 :absorbansi sampel pada menit ke 2

Abs samp 3 :absorbansi sampel pada menit ke 3

F :faktor 1745 untuk pengukuran pada panjang gelombang 340 nm

11. Pemeriksaan Aktivitas ALP Plasma

1. Penyiapan monoreagent

Campurkan 4 bagian reagen 1 dengan 1 bagian reagen 2 (1200 μ L reagen 1 + 300 μ L reagen 2) = monoreagent

2. Pengujian aktivitas ALP

Sebanyak 20 μ L serum dan 1000 μ L monoreagent dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk dicampurkan selama 1 menit dan dihomogenkan. Kemudian langsung diukur absorbannya menggunakan fotometer 5010 v5+ tepat setelah menit ke 1 pada panjang gelombang 405 nm. Setelah sebelumnya nilai blanko diuji. Aktivitas ALP dapat ditentukan dengan menghitung rata-rata selisih absorbansi sampel permenit dikalikan faktor 2757 (18).

$$\text{ALP (U/L)} = \Delta A/\text{menit} \times \text{faktor (2757)}$$

Keterangan:

$\Delta A / \text{Menit}$ = Perubahan absorbansi rata-rata per menit.

3.4 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisa secara statistik dengan menggunakan metode analisa varian (ANOVA) dua arah. Analisa ANOVA dua arah dilakukan dengan IBM SPSS Statistic 25. Hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan. Kebermaknaan diambil pada $P < 0,05$.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) termasuk tumbuhan famili Rubiaceae yang memiliki banyak aktivitas farmakologi. Dalam pengolahan gambir terdapat dua metode yaitu pre purifikasi dan non purifikasi. Dari kedua metode tersebut, metode terbaik isolasi katekin untuk bahan obat dan kosmetik adalah metode pre purifikasi (19). Pada penelitian ini digunakan gambir terpurifikasi yaitu gambir yang mengandung $\geq 90\%$ katekin yang didapatkan dari Andalas Sitawa Fitolab (20).

Secara tradisional tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) telah digunakan sebagai pelengkap sirih, obat luka bakar, obat sakit kepala, obat diare, dan obat sakit tenggorokan (3). Selain itu, secara modern tanaman gambir digunakan sebagai bahan baku industri farmasi dimana telah dikembangkan bahan baku permen yang melegakan kerongkongan bagi perokok di Jepang karena mampu menetralsir nikotin dan di Singapura gambir digunakan sebagai bahan baku obat sakit perut dan sakit gigi (21).

Dilain pihak, obat paten yang mengandung katekin yaitu Catergen[®] ditarik dari peredaran karena mengakibatkan imunohemolisis pada pasien yang menggunakannya (8). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman gambir tidak sepenuhnya aman untuk dikonsumsi. Oleh karena itu, untuk pengembangan tanaman gambir sebagai bahan baku obat dan kosmetik serta fitofarmaka perlu dilakukan uji keamanan terhadap tanaman gambir.

Penelitian yang dilakukan kali ini yaitu uji toksisitas sub akut gambir terpurifikasi terhadap fungsi ginjal dan hati tikus putih dan reversibilitasnya. Diharapkan bahwa uji toksisitas sub akut gambir terpurifikasi ini dapat dijadikan sebagai data terkait dengan keamanan penggunaan gambir terpurifikasi dalam pengembangannya menjadi fitofarmaka dan sebagai bahan baku obat serta kosmetik.

Toksisitas dapat disebabkan oleh suatu zat toksik. Zat toksik ini meliputi aspek kualitatif dan kuantitatif. Efek yang ditimbulkan suatu zat terhadap suatu organisme akan berbeda pada organisme lain hal ini merupakan aspek kualitatif zat toksik (22). Selain itu, efek toksik yang ditimbulkan tergantung pada dosis, durasi dan frekuensi paparan zat toksik hal ini merupakan aspek kuantitatif zat toksik (23). Uji toksisitas yang dilakukan pada penelitian kali ini adalah uji toksisitas sub akut yang spesifik terhadap fungsi ginjal. uji ini merupakan serangkaian uji prelinik (24).

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih. Tikus dipilih sebagai hewan uji karena tikus merupakan hewan pengerat yang memenuhi syarat yang

ditetapkan dalam pengujian toksisitas. Syarat tersebut adalah bahwa hewan uji yang digunakan harus memiliki tingkat sensitivitas dan cara metabolisme sediaan uji yang serupa dengan manusia, kecepatan tumbuh serta mudah tidaknya cara penanganan sewaktu dilakukan pengujian (25).

Aklimatisasi hewan pada penelitian ini bertujuan agar tikus dapat membiasakan diri dengan lingkungannya yang baru serta untuk memiliki tikus yang sehat yang layak digunakan. Setelah dilakukan aklimatisasi, didapatkan hasil bahwa hewan yang digunakan dalam penelitian ini dalam keadaan sehat karena tidak mengalami kenaikan berat badan >10%.

Uji toksisitas sub akut berfokus pada efek yang ditimbulkan suatu zat setelah pemberian dosis tunggal atau beberapa dosis pada hewan uji selama 14 hingga 28 hari (26). Merujuk pada hal tersebut, penelitian ini dilakukan selama 14 hari dengan pemberian dosis larutan gambir terpurifikasi secara berulang. Sementara itu, untuk melihat efek reversibilitas toksisitas maka hewan akan dibiarkan hidup selama 7 hari tanpa pemberian sediaan uji lalu ditentukan kembali parameter fungsi ginjalnya.

Pengujian toksisitas subakut dan subkronis merupakan pengujian toksisitas dengan pemberian berulang terhadap dosis sediaan uji (23). Dosis yang digunakan dalam pengujian toksisitas merupakan dosis lazim untuk mendapatkan efek terapi yang diinginkan dan dosis dengan faktor perkalian tetap yang diberikan sesuai dengan pola konsumsi sehari-hari (25). Oleh sebab itu, berdasarkan dosis terapi yang digunakan pada pengujian aktivitas antihipertensi dari tumbuhan gambir terstandarisasi (*Uncaria gambir* Roxb) maka dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis 5, 10 dan 20 mg/kg yang diberikan secara peroral pada kelompok hewan uji (27).

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah volume urin 24 jam, volume minum, kadar kreatinin urin, kadar kreatinin serum, penentuan fungsi ginjal, berat jenis urin, aktivitas ALT, aktivitas ALP, rasio ginjal dan hati sehingga diketahui keamanan gambir terpurifikasi pada organ ginjal dan hati.

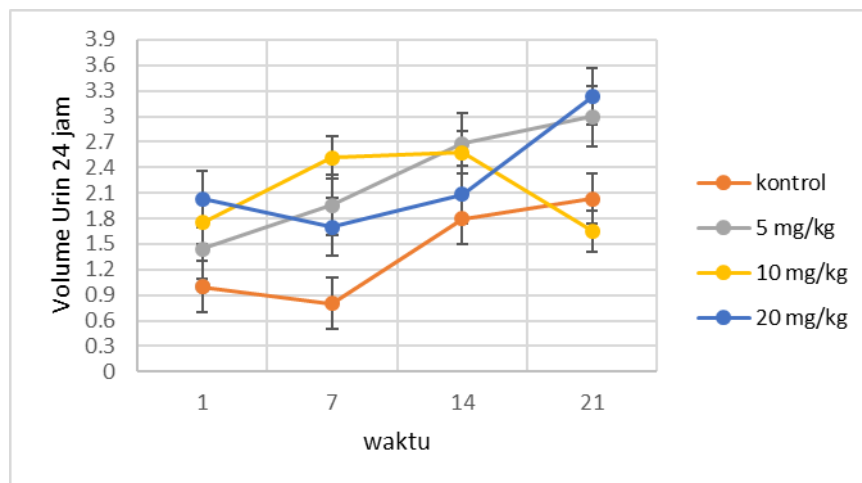
Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa Volume urin 24 jam tidak dipengaruhi secara bermakna oleh dosis dan lama pemberian sediaan uji ($P>0,05$).

Tabel 4.1 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap volume urin 24 tikus putih

Dosis (mg/kg)	Volume Urin (hari ke-)				Rata-rata (mL)
	1	7	14	21	
kontrol	1,000±1,480	0,800±1,046	1,800±0,854	2,033±0,854	1,408±0,544
5	1,440±0,662	1,957±0,559	2,680±0,662	3,000±1,046	2,269±0,378
10	1,750±0,604	2,517±0,604	2,575±0,740	1,650±1,046	2,123±0,367
20	2,029±0,559	1,700±0,523	2,080±0,662	3,233±0,854	2,479±0,478
Rata-rata	1,555±0,454	1,743±0,358	2,284±0,367	2,479±0,478	

Volume urin 24 jam rata-rata hewan uji kelompok kontrol; hewan uji yang diberikan dosis 5, 10 dan 20 mg/kg berturut-turut adalah 1,408±0,544; 2,269±0,378; 2,123±0,367; 2,479±0,478 ml. Sedangkan volume urin 24 jam rata-rata setiap kelompok pada hari ke-1, 7, 14 dan 21 berturut-turut adalah 1,555±0,454; 1,743±0,358; 2,284±0,367; 2,479±0,478.

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan volume urin selama pemberian sediaan uji. Hal ini terjadi karena senyawa flavonoid yang terdapat dalam gambir (katekin) dapat menghambat reabsorpsi Na⁺ dan Cl⁻ yang bisa menyebabkan peningkatan Na⁺ dan air di tubulus sehingga dapat menyebabkan peningkatan volume urin (28).



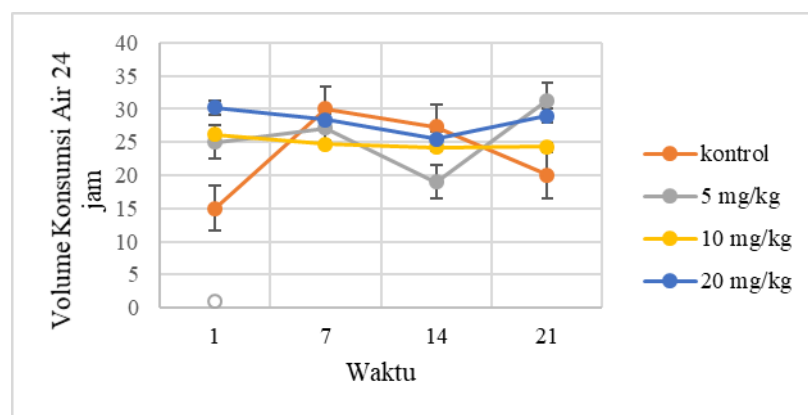
Gambar 4.1 Grafik pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap volume urin 24 jam tikus putih

Parameter selanjutnya yaitu volume konsumsi air minum rata-rata hewan uji. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa volume konsumsi air minum rata-rata hewan uji tidak dipengaruhi secara bermakna oleh dosis dan lama pemberian sediaan uji ($P>0,05$).

Tabel 4.2 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap volume konsumsi air minum 24 jam tikus putih

Dosis (mg/kg)	Volume konsumsi air (hari ke-)				Rata-rata (mL)
	1	7	14	21	
kontrol	15,000±6,077	30,000±6,077	27,333±3,509	20,000±4,297	23,083±2,557
5	25,000±2,481	27,143±2,297	19,000±2,718	31,333±3,509	25,619±1,395
10	26,200±2,718	24,714±2,718	24,200±2,718	24,333±3,509	24,862±1,422
20	30,200±2,718	28,400±2,718	25,500±2,481	29,000±3,509	28,275±1,441
Rata-rata	24,100±1,902	27,564±1,852	24,008±1,441	26,167±1,861	

Volume konsumsi air minum 24 jam rata-rata hewan uji kelompok kontrol; hewan uji yang diberikan dosis 5, 10 dan 20 mg/kg berturut-turut adalah 23,083±2,557; 25,619±1,395; 24,862±1,422; 28,275±1,441 ml. Sedangkan volume konsumsi air minum rata-rata setiap kelompok pada hari ke-1,7,14 dan 21 berturut-turut adalah 24,100±1,902; 27,564±1,852; 24,008±1,441; 26,167±1,861 ml.

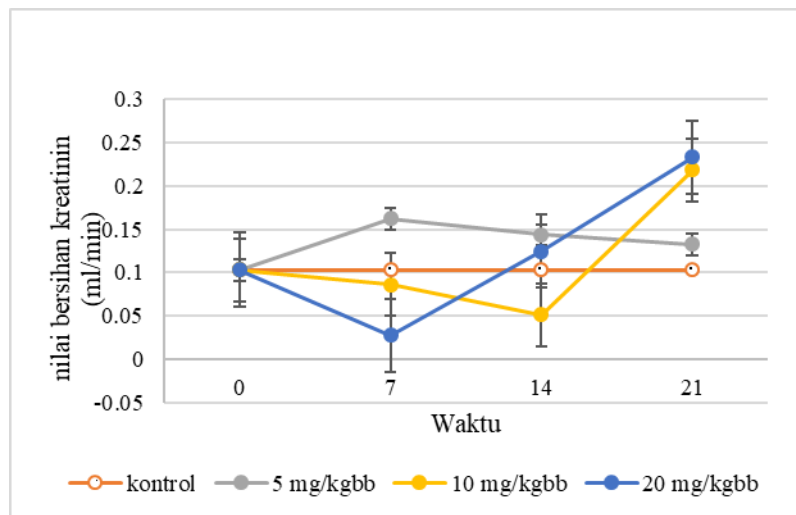


Gambar 4.2 Grafik pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap volume konsumsi air 24 jam tikus putih

Bersihan kreatinin hewan uji tidak dipengaruhi secara bermakna oleh dosis dan lama pemberian sediaan uji ($P>0,05$). Nilai bersihan kreatinin rata-rata hewan uji kelompok kontrol; hewan uji yang diberikan dosis 5, 10 dan 20 mg/kg berturut-turut adalah $0,103\pm 0,029$; $0,135\pm 0,029$; $0,115\pm 0,029$; $0,122\pm 0,029$. Sedangkan nilai rata-rata bersihan kreatinin setiap kelompok pada hari ke-0,7,14 dan 21 berturut-turut adalah $0,103\pm 0,029$; $0,095\pm 0,029$; $0,106\pm 0,029$; $0,172\pm 0,029$.

Tabel 4.3 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap nilai bersihan kreatinin tikus putih

Dosis (mg/kg)	Nilai bersihan kreatinin				Rata-rata (mL/min)
	0	7	14	21	
Kontrol	$0,103\pm 0,059$	$0,103\pm 0,059$	$0,103\pm 0,059$	$0,103\pm 0,059$	$0,103\pm 0,029$
5	$0,103\pm 0,059$	$0,162\pm 0,059$	$0,143\pm 0,059$	$0,132\pm 0,059$	$0,135\pm 0,029$
10	$0,103\pm 0,059$	$0,086\pm 0,059$	$0,051\pm 0,059$	$0,218\pm 0,059$	$0,115\pm 0,029$
20	$0,103\pm 0,059$	$0,028\pm 0,059$	$0,125\pm 0,059$	$0,233\pm 0,059$	$0,122\pm 0,029$
Rata-rata	$0,103\pm 0,029$	$0,095\pm 0,029$	$0,106\pm 0,029$	$0,172\pm 0,029$	



Gambar 4.3 Grafik pengaruh dosis dan lama perlakuan terhadap nilai bersihan kreatinin

Persentase fungsi ginjal tidak dipengaruhi oleh dosis dan lama pemberian sediaan uji ($P>0,05$). Persentase fungsi ginjal rata-rata hewan uji kelompok kontrol; hewan uji yang diberikan dosis 5, 10 dan 20 mg/kg secara berturut-turut adalah $100,0\pm 28,391$; $131,2\pm 28,391$; $111,2\pm 28,391$; $118,4\pm 28,391$. Persentase fungsi ginjal rata-rata setiap kelompok hewan uji pada hari ke-0, 7, 14 dan 21 berturut-turut adalah $100,0\pm 28,391$; $91,8\pm 28,391$; $102,3\pm 28,391$; $166,6\pm 28,391$.

Tabel 4.4 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap persentase fungsi ginjal tikus putih

Dosis (mg/kg)	Persentase fungsi ginjal (%) pada hari ke-				Rata-rata (%)
	0	7	14	21	
Kontrol	$100,0\pm 56,782$	$100,0\pm 56,782$	$100,0\pm 56,782$	$100,0\pm 56,782$	$100,0\pm 28,391$
5	$100,0\pm 56,782$	$157,3\pm 56,782$	$139,0\pm 56,782$	$128,4\pm 56,782$	$131,2\pm 28,391$
10	$100,0\pm 56,782$	$83,5\pm 56,782$	$49,3\pm 56,782$	$211,9\pm 56,782$	$111,2\pm 28,391$
20	$100,0\pm 56,782$	$26,7\pm 56,782$	$120,8\pm 56,782$	$226,3\pm 56,782$	$118,4\pm 28,391$
Rata-rata	$100,0\pm 28,391$	$91,8\pm 28,391$	$102,3\pm 28,391$	$166,6\pm 28,391$	

Kandungan utama gambir terpurifikasi adalah katekin. Katekin bersifat asam lemah tidak stabil dalam udara terbuka dan mudah teroksidasi pada pH mendekati netral yaitu 6,9 dan lebih stabil pada pH 2,8 dan 4,9 (29). Secara teori, obat yang bersifat asam lemah akan lebih mudah diserap pada tempat yang memiliki suasana asam seperti dalam lambung. Setelah obat diabsorpsi ke dalam plasma, molekul obat didistribusi ke seluruh tubuh melalui sirkulasi sistemik. Molekul obat dibawa oleh darah ke suatu target (reseptor) untuk aksi obat dan juga ke jaringan lain (nonreseptor) dimana dapat terjadi efek merugikan. Molekul obat terdistribusi ke organ pengeliminasi seperti liver dan ginjal. Ginjal merupakan organ yang bertanggungjawab dalam proses pembersihan sisa metabolik (30).

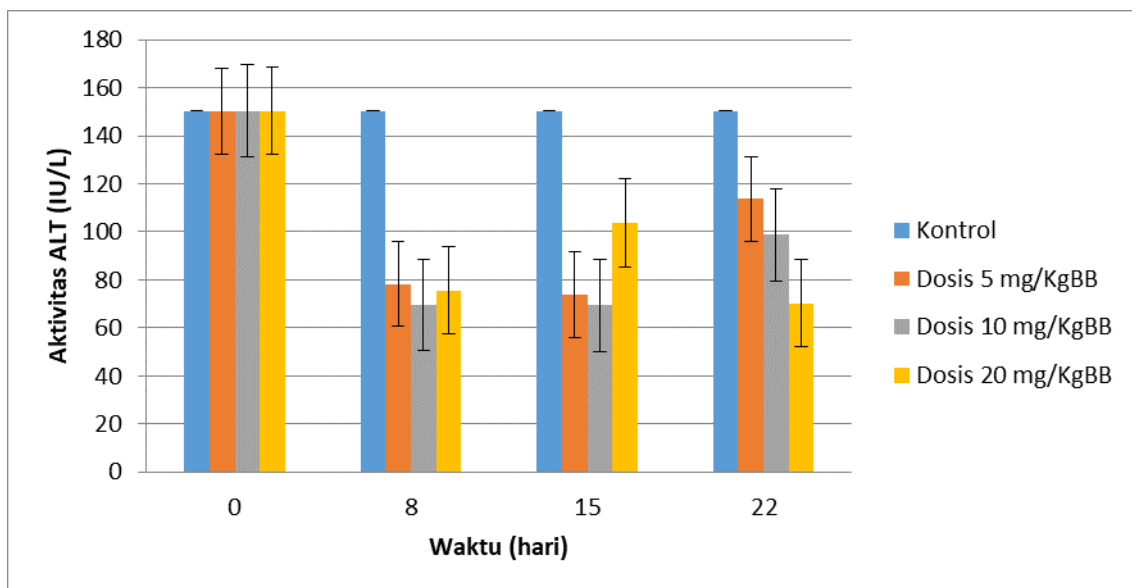
Pada penelitian ini terlihat terjadi peningkatan persentase fungsi ginjal melebihi 100%. Kenaikan persentase fungsi ginjal ini terjadi karena peningkatan laju filtrasi glomerulus. Menurut teori Brenner, peningkatan laju filtrasi glomerulus terjadi karena adanya hiperfiltrasi yang menandakan adanya kerusakan ginjal pada beberapa kondisi klinis (31). Hiperfiltrasi glomerulus terjadi karena perubahan vaskular perifer termasuk kekakuan arteri dan disfungsi endotel. (32).

Pada keadaan normal, ginjal menerima sekitar 25% darah dari curah jantung yang beristirahat. Hal ini menandakan bahwa aliran darah ke ginjal dalam keadaan normal lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan yang tidak sempurna seperti otot, rangka, kulit dan lemak (22). Pada keadaan hiperfiltrasi terjadi peningkatan aliran darah ke ginjal (hiperperfusi ginjal). Cedera hiperperfusi ginjal merupakan tahap awal dari kerusakan fokal dan segmental kapiler glomerulus. Dalam jangka waktu yang lama, cedera hiperperfusi ini dapat mengakibatkan penebalan membran dasar glomerulus yang menyebabkan terganggunya proses filtrasi di glomerulus (33).

Selanjutnya, Pada parameter aktivitas ALT menunjukkan adanya pengaruh bermakna dari dosis gambir terpurifikasi dan lama pemberian terhadap aktivitas ALT ($p < 0,05$). Serta tidak terdapat interaksi antara keduanya ($p > 0,05$). Hewan yang diberikan gambir terpurifikasi memiliki nilai aktivitas ALT yang lebih rendah dibandingkan nilai kontrol. Terdapat penurunan nilai aktivitas ALT rata-rata yang lebih rendah dari kontrol pada semua kelompok dosis pada hari ke 8. Hasil penelitian pada hari ke 15 menunjukkan kelompok dosis 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB tidak mengalami perubahan aktivitas ALT rata-rata yang signifikan, tetapi pada kelompok dosis 20 mg/KgBB terdapat peningkatan aktivitas ALT tetapi nilainya masih lebih rendah dari nilai kontrol. Setelah pemberian gambir dihentikan, terdapat peningkatan aktivitas ALT rata-rata pada kelompok dosis 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB yang masih berada dibawah nilai kontrol. Tetapi terjadi penurunan aktivitas ALT pada kelompok dosis 20 mg/KgBB. Hasil penelitian aktivitas ALT rata-rata pada tikus putih betina ini menunjukkan angka yang berada dalam rentang normal, baik pada kelompok kontrol maupun kelompok dosis, yaitu 52-224 IU/L (52). Dosis yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan nilai aktivitas ALT. Gambir yang diberikan selama 7-14 hari tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap penurunan aktivitas ALT. Aktivitas ALT tidak berubah secara nyata ketika pemberian gambir dihentikan. Aktivitas ALT rata-rata pada hari ke 0,8,15 dan 22 berturut-turut adalah $150,333 \pm 10,47$; $93,500 \pm 10,47$; $99,333 \pm 10,47$; $108,250 \pm 10,47$ dan Aktivitas ALT rata-rata pada kelompok kontrol, dosis 5 mg/KgBB, 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB adalah sebagai berikut $150,333 \pm 10,47$; $104,083 \pm 10,47$; $97,000 \pm 10,47$; $100,000 \pm 10,47$.

Tabel 4.5 Tabel pengaruh gambir terpurifikasi terhadap aktivitas ALT rata-rata (IU/L) pada pemberian selama 14 hari dan reversibilitasnya

Dosis (mg/Kg BB)	Aktivitas ALT rata-rata (IU/L) pada hari ke- ± SE				Rata-rata ± SE
	0	8	15	22	
Kontrol	150,3 ± 20,9	150,3 ± 20,9	150,3 ± 20,9	150,3 ± 20,9	150,3 ± 10,4 ^q
5	150,3 ± 20,9	78,3 ± 20,9	74,0 ± 20,9	113,6 ± 20,9	104,0 ± 10,4 ^p
10	150,3 ± 20,9	69,6 ± 20,9	69,3 ± 20,9	98,6 ± 20,9	97,0 ± 10,4 ^p
20	150,3 ± 20,9	75,6 ± 20,9	103,6 ± 20,9	70,3 ± 20,9	100,0 ± 10,4 ^p
Rata-rata ± SE	150,3 ± 10,4 ^b	93,5 ± 10,4 ^a	99,3 ± 10,4 ^a	108,2 ± 10,4 ^a	



Gambar 4.4 Grafik hubungan antara aktivitas ALT (IU/L) terhadap dosis dan waktu pemberian gambir terpurifikasi

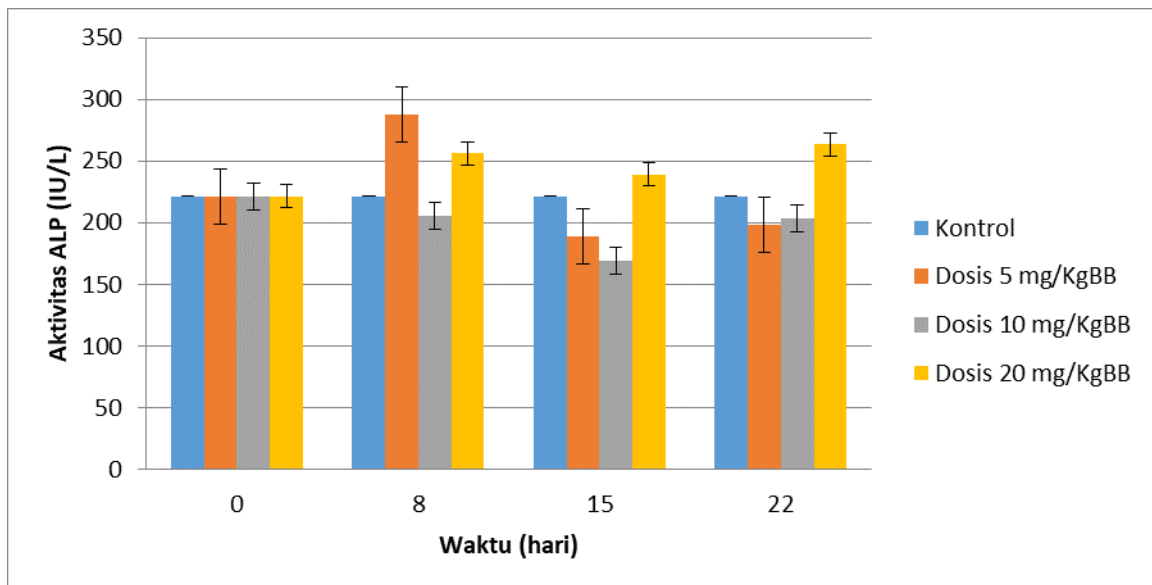
Pada penelitian kali ini nilai aktivitas ALT berada dalam rentang normal pada semua kelompok dosis hewan. Hewan yang diberikan gambir terpurifikasi memiliki nilai aktivitas ALT yang lebih rendah dari nilai aktivitas ALT kontrol. Saat pemberian gambir dihentikan, terdapat kenaikan aktivitas ALT tetapi tidak signifikan dan lebih rendah dari nilai kontrol.

Rendahnya aktivitas ALT pada hewan yang diberikan gambir disebabkan karena katekin yang terdapat pada gambir (*Uncaria gambir roxb*) adalah zat aktif yang merupakan golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan berpotensi sebagai hepatoprotektor (34). Zat aktif inilah yang dapat memperbaiki fungsi hati hewan dan yang penyebab nilai aktivitas ALT lebih rendah dari kontrol.

Hasil penelitian ini menunjukkan tidak ada pengaruh bermakna dari dosis gambir terpurifikasi dan lama pemberian terhadap aktivitas ALP ($p > 0,1$). Serta tidak terdapat interaksi antara keduanya ($p > 0,1$). Hewan yang diberikan gambir terpurifikasi mengalami fluktuasi nilai aktivitas ALP. Pada hari ke 8 terdapat penurunan nilai aktivitas ALP rata-rata pada tikus kelompok dosis 10 mg/KgBB jika dibandingkan dengan nilai kontrol, tetapi terjadi peningkatan nilai aktivitas ALP rata-rata pada tikus kelompok dosis 5 mg/KgBB dan 20 mg/KgBB yang lebih tinggi dari nilai kontrol. Pada hari ke 15, nilai aktivitas ALP rata-rata pada kelompok dosis 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB menurun jika dibandingkan dengan nilai kontrol. Pada dosis 20 mg/KgBB terjadi sedikit penurunan nilai aktivitas ALP rata-rata, tetapi nilainya masih lebih tinggi dari nilai kontrol. Pada saat pemberian gambir dihentikan, terjadi peningkatan nilai aktivitas ALP rata-rata pada dosis 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB dengan nilai yang masih berada dibawah nilai kontrol (rentang normal). Pada dosis 20 mg/KgBB terjadi sedikit peningkatan nilai aktivitas ALP rata-rata dengan nilai yang masih lebih tinggi dari nilai kontrol. Peningkatan nilai aktivitas ALP rata-rata pada tikus putih masih berada dalam rentang normal, kecuali pada dosis 5 mg/KgBB di hari ke 8 dan dosis 20 mg/KgBB yang nilai aktivitas ALP rata-ratanya berada sedikit diatas nilai normal (62-230 U/L) (57). Dosis yang berbeda tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap penurunan atau peningkatan aktivitas ALP. Gambir yang diberikan selama 7-14 hari tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap nilai aktivitas ALP. Aktivitas ALP tidak berubah secara nyata ketika pemberian gambir dihentikan. Aktivitas ALP rata-rata pada hari ke 0,8,15 dan 22 berturut-turut adalah $221,333 \pm 27,083$; $242,750 \pm 27,083$; $204,792 \pm 28,726$; $221,708 \pm 28,726$ dan Aktivitas ALP rata-rata pada kelompok kontrol, dosis 5 mg/KgBB, 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB adalah sebagai berikut $221,333 \pm 27,083$; $224,208 \pm 28,726$; $199,917 \pm 27,083$; $245,125 \pm 28,726$.

Tabel 4.6 Tabel pengaruh gambir terpurifikasi terhadap aktivitas ALP rata-rata (IU/L) pada pemberian selama 14 hari dan reversibilitasnya

Dosis (mg/Kg BB)	Aktivitas ALP rata-rata (IU/L) pada hari ke- ± SE				Rata-rata ± SE
	0	8	15	22	
Kontrol	221,3 ± 54,1	221,3 ± 54,1	221,3 ± 54,1	221,3 ± 54,1	221,3 ± 27,0
5	221,3 ± 54,1	288 ± 54,1	189 ± 54,1	198,5 ± 66,3	224,2 ± 28,7
10	221,3 ± 54,1	205,3 ± 54,1	169,3 ± 54,1	203,6 ± 54,1	199,9 ± 27,0
20	221,3 ± 54,1	256,3 ± 54,1	239 ± 66,3	263,3 ± 54,1	245,1 ± 28,7
Rata-rata ± SE	221,3 ± 27,0	242,7 ± 27,0	204,7 ± 28,7	221,7 ± 28,7	



Gambar 4.5 Grafik hubungan antara aktivitas ALP (IU/L) terhadap dosis dan waktu pemberian gambir terpurifikasi

Pada penelitian kali ini nilai aktivitas ALP tikus yang diberi gambir terpurifikasi mengalami fluktuasi tapi tidak signifikan. Akan tetapi, nilai ALP secara umum berada dalam rentang normal kecuali pada dosis 20 mg/KgBB dan pada pemberian hari ke 8, nilai aktivitas

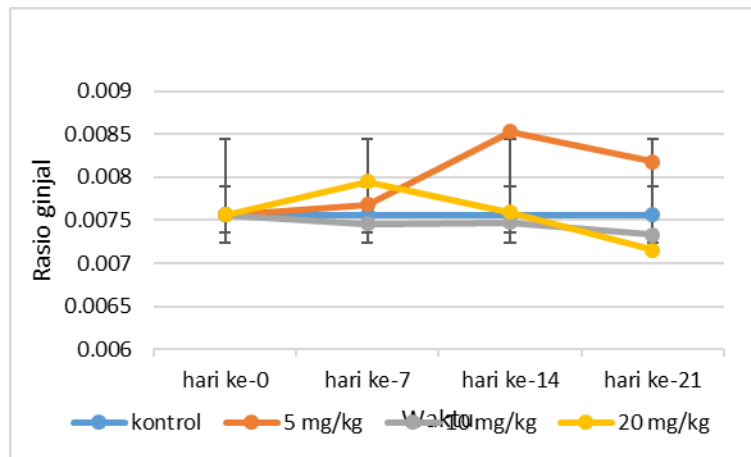
ALP berada sedikit diatas rentang normal. Hal ini dapat disebabkan karena grafik menunjukkan pola aktivitas ALP yang mengikuti respon dosis bifasik dimana efek farmakologis maksimal terjadi pada dosis intermediet sehingga efek farmakologis menurun ketika dosis ditingkatkan melebihi dosis intermediet (35). Hal ini juga sesuai dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa efek respon dosis yang bifasik terjadi pada pemberian ekstrak Iranian Green tea terhadap licking time hewan percobaan yang diinduksi formalin dimana Iranian Green tea memiliki kandungan katekin. Katekin juga merupakan zat aktif utama yang terdapat pada gambir terpurifikasi (36). Selain itu, hal ini dapat disebabkan oleh ALP tidak mengalir ke dalam empedu tetapi dialirkan reflux ke darah dan disebabkan karena hewan masih dalam masa pertumbuhan (37) (38).

Parameter selanjutnya adalah rasio organ ginjal dan organ hati. Rasio organ ginjal juga diamati sebagai parameter uji toksisitas subakut pada penelitian ini karena organ ginjal merupakan organ yang sensitif terhadap paparan toksikan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis dan lama pemberian sediaan uji tidak mempengaruhi rasio ginjal tikus putih jantan ($P>0,05$).

Tabel 4.7 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji terhadap rasio ginjal tikus putih

Dosis (mg/kg)	Rasio ginjal pada hari ke- ($\times 10^{-2}$)				Rata-rata ($\times 10^{-2}$)
	0	7	14	21	
Kontrol	0,7562±0,0349	0,7562±0,0349	0,7562±0,0349	0,7562±0,0349	0,7562±0,174
5	0,7562±0,0349	0,7679±0,0349	0,853±0,0349	0,8177±0,0349	0,7987±0,0174
10	0,7562±0,0349	0,7454±0,0349	0,7475±0,0349	0,7328±0,0349	0,7455±0,0174
20	0,7562±0,0349	0,795±0,0349	0,7594±0,0349	0,7153±0,0349	0,7565±0,0174
Rata-rata	0,7562±0,0174	0,7661±0,0174	0,779±0,0174	0,7555±0,0174	

Rasio ginjal rata-rata hewan uji kelompok kontrol, hewan uji yang diberi dosis 5, 10 dan 20 mg/kg berturut-turut adalah 0,007562±0,000174; 0,007987±0,000174; 0,007455±0,000174; 0,007565±0,000174. Sedangkan rasio ginjal rata-rata hewan uji setiap kelompok hewan uji pada hari ke-0,7,14 dan 21 berturut-turut adalah 0,007562±0,0174; 0,7661±0,0174; 0,779±0,0174; 0,7555±0,0174.



Gambar 4.6. Grafik pengaruh dosis dan lama pemberian terhadap rasio ginjal tikus putih

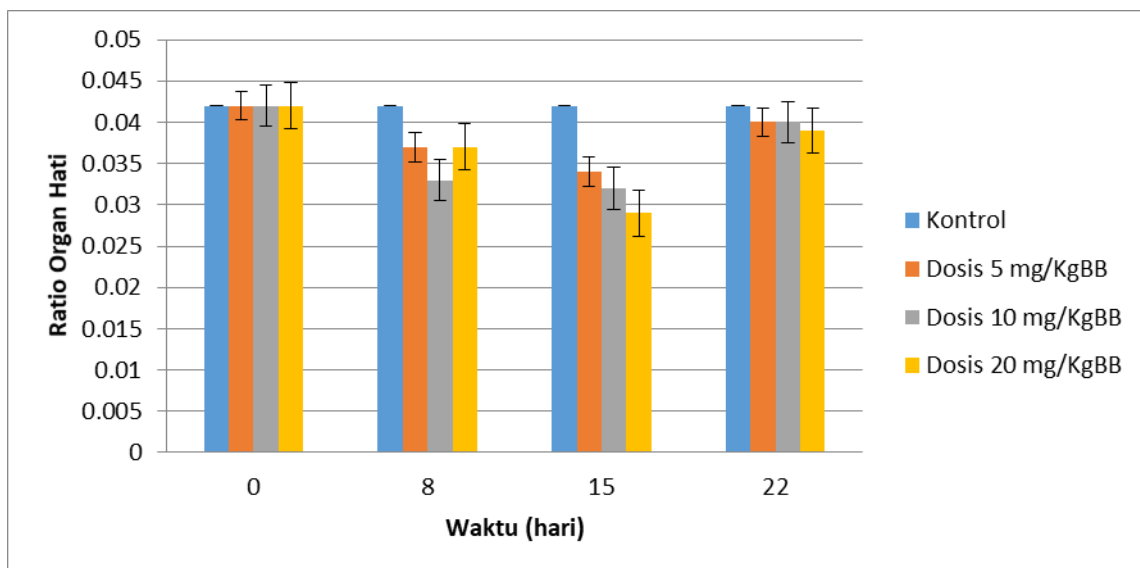
Pada rasio organ hati, menunjukkan adanya pengaruh bermakna dari dosis gambir terpurifikasi dan lama pemberian terhadap rasio organ hati ($p < 0,05$). Serta tidak terdapat interaksi antara keduanya ($p > 0,05$). Hewan yang diberikan gambir terpurifikasi memiliki nilai rasio organ hati yang lebih rendah dari kontrol. Terdapat penurunan nilai rasio organ hati rata-rata pada semua kelompok dosis pada hari ke 8 dan hari ke 15 jika dibandingkan dengan nilai rasio organ hati rata-rata kontrol. Saat pemberian gambir dihentikan, terdapat peningkatan rasio organ hati rata-rata pada semua kelompok dosis tetapi masih berada dibawah nilai kontrol. Dosis yang berbeda tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap penurunan rasio organ hati. Gambir yang diberikan selama 7-14 hari memberikan pengaruh signifikan terhadap penurunan rasio organ hati. Terdapat pengaruh signifikan saat pemberian dosis dihentikan jika dibandingkan dengan nilai kontrol. Rasio organ hati rata-rata pada hari ke 0,8,15 dan 22 berturut-turut adalah $0,042 \pm 0,001$; $0,037 \pm 0,001$; $0,034 \pm 0,001$; $0,040 \pm 0,001$ dan rasio organ hati rata-rata pada kelompok kontrol, dosis 5 mg/KgBB, 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB adalah sebagai berikut $0,042 \pm 0,001$; $0,038 \pm 0,001$; $0,037 \pm 0,001$; $0,037 \pm 0,001$.

Pada penelitian ini, hewan yang diberikan gambir terpurifikasi mengalami penurunan nilai yang tidak signifikan jika dibandingkan dengan nilai kontrol. Nilai rasio organ hati dinilai dari perbandingan berat organ hati dengan berat badan hewan. Perbedaan berat organ sering disertai dengan perbedaan berat badan antara kelompok uji sehingga menyebabkan hasil rasio organ sulit untuk diterjemahkan (39). Terjadinya penurunan rasio organ hati dapat disebabkan karena sel hepatosit mengalami atrofi (40) atau karena perubahan berat badan hewan. Pada penelitian ini rasio organ hati mengalami penurunan disebabkan karena

peningkatan berat badan hewan selama masa pengujian sesuai dengan persamaan rasio organ hati, dimana semakin naik berat badan hewan maka rasio akan semakin turun (41).

Tabel 4.8 Tabel pengaruh gambir terpurifikasi terhadap rasio organ hati pada pemberian selama 14 hari dan reversibilitasnya

Dosis (mg/Kg BB)	Rasio organ hati pada hari ke- \pm ($\times 10^{-2}$) \pm SE				Rata-rata \pm SE
	0	8	15	22	
Kontrol	4,2 \pm 0,2	4,2 \pm 0,2	4,2 \pm 0,2	4,2 \pm 0,2	4,2 \pm 0,1 ^q
5	4,2 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2	3,4 \pm 0,2	4 \pm 0,2	3,8 \pm 0,1 ^p
10	4,2 \pm 0,2	3,3 \pm 0,2	3,2 \pm 0,2	4 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1 ^p
20	4,2 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2	2,9 \pm 0,2	3,9 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1 ^p
Rata-rata \pm SE	4,2 \pm 0,1 ^c	3,7 \pm 0,1 ^b	3,4 \pm 0,1 ^a	4 \pm 0,1 ^c	



Gambar 4.7 Grafik hubungan antara rasio organ hati rata-rata terhadap dosis dan waktu pemberian gambir terpurifikasi

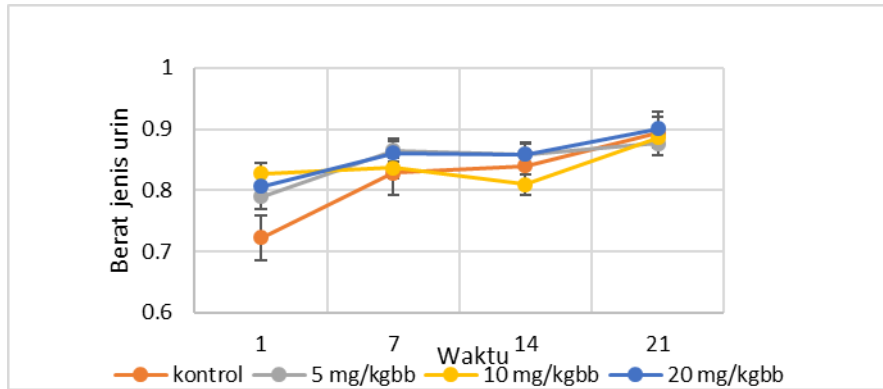
Parameter terakhir yang diamati pada penelitian ini adalah berat jenis urin. Pengukuran berat jenis urin dilakukan dengan metode penimbangan. Metode ini dilakukan karena urin yang didapatkan sedikit. Berat jenis urin yang dihitung adalah berat jenis urin hari ke-1, 7, 14 dan 21.

Berdasarkan data statistik yang diperoleh, dosis sediaan uji tidak berpengaruh secara bermakna ($P>0,05$) terhadap berat jenis urin tikus putih jantan. Namun, lama pemberian sediaan uji berpengaruh secara bermakna ($P<0,05$) terhadap berat jenis urin tikus putih jantan.

Tabel 4.9 Pengaruh dosis dan lama pemberian sediaan uji berat jenis urin tikus putih

Dosis (mg/kg)	Berat jenis urin pada hari ke-				Rata-rata
	1	7	14	21	
Kontrol	0,722±0,058	0,828±0,058	0,840±0,481	0,893±0,481	0,821±0,026
5	0,790±0,037	0,865±0,034	0,859±0,037	0,877±0,048	0,848±0,019
10	0,827±0,031	0,837±0,029	0,809±0,373	0,886±0,048	0,840±0,018
20	0,806±0,034	0,861±0,037	0,859±0,037	0,901±0,048	0,857±0,019
Rata-rata	0,786±0,020 ^a	0,848±0,020 ^{ab}	0,842±0,024 ^{ab}	0,889±0,024 ^b	

Berat jenis urin rata-rata pada hewan uji kelompok kontrol, hewan uji yang diberikan dosis 5, 10 dan 20 mg/kg berturut-turut adalah 0,821±0,026; 0,848±0,019; 0,840±0,018; 0,857±0,019. Sedangkan berat jenis urin rata-rata hewan uji setiap kelompok hewan uji pada hari ke-0,7,14 dan 21 berturut-turut adalah 0,786±0,020; 0,786±0,020; 0,842±0,024; 0,889±0,024.



Gambar 4.8 Grafik pengaruh dosis dan lama pemberian terhadap berat jenis urin tikus putih

Penentuan berat jenis urin erat kaitannya dengan penentuan konsentrasi urin. Penentuan konsentrasi urin dilakukan untuk mengevaluasi kapasitas fungsional tubulus ginjal. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan ginjal untuk meningkatkan konsentrasi dan mengencerkan urin yang dipengaruhi oleh keberadaan hormon ADH dan sel-sel tubular di medula ginjal. Kegagalan untuk mencapai konsentrasi urin yang adekuat dapat disebabkan karena kerusakan medula ginjal atau karena kurangnya ADH (42). Penentuan berat jenis urin juga dapat menentukan kemampuan glomerulus dalam melakukan proses filtrasi. Dalam keadaan ginjal normal, filtrasi glomerulus terjadi pada molekul kecil seperti obat-obat yang tidak terion dan terion. Obat-obat yang terikat protein berlaku sebagai molekul besar tidak terfiltrasi dalam glomerulus (28).

Selain itu, pengukuran berat jenis urin dilakukan untuk menentukan status hidrasi. Status hidrasi merupakan suatu kondisi yang menggambarkan jumlah cairan yang masuk ke dalam tubuh. Keseimbangan cairan tubuh tercapai apabila volume air yang masuk ke dalam tubuh sama dengan volume air yang keluar. Berat jenis urin merupakan gambaran konsentrasi zat terlarut dalam urin, yaitu perbandingan antara massa larutan dengan volume air. Apabila terjadi dehidrasi maka akan terjadi peningkatan reabsorpsi air oleh ginjal dan akan meningkatkan konsentrasi urin sehingga urin yang dikeluarkan akan menjadi lebih pekat (43). Pada penelitian ini terjadi peningkatan volume konsumsi air yang sejalan dengan peningkatan volume urin 24 jam yang menandakan bahwa adanya keseimbangan cairan tubuh.

Berat jenis urin hewan mengalami kenaikan dari awal pemberian sediaan uji hingga pemberian sediaan uji dihentikan dimana berat jenis urin hewan selama pemberian sediaan uji dan setelah dihentikan lebih besar daripada berat jenis urin sebelum diberikan sediaan uji.

Terdapatnya peningkatan berat jenis urin mengindikasikan bahwa adanya molekul yang memiliki berat jenis lebih besar masuk dalam urin yang diekskresikan. Hal tersebut terjadi karena adanya kerusakan pada membran dasar glomerular dimana membran dasar glomerular ini bertanggung jawab dalam membangun dan mempertahankan penghalang filtrasi glomerulus (44).

Penelitian ini menunjukkan bahwa gambir terpurifikasi berpotensi toksik terhadap fungsi ginjal berdasarkan peningkatan persentase fungsi ginjal (>100%) dan peningkatan berat jenis urin pada saat pemberian sediaan dihentikan dan bersifat relatif tidak toksik terhadap fungsi hati hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Bachtiar tentang uji toksisitas akut gambir dan sifat gambir sebagai hepatoprotektor (20) juga penelitian Ainun tentang uji toksisitas isolat katekin gambir (23).

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Penggunaan gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir* Roxb.) pada dosis 5-20 mg/kg berpotensi menimbulkan gangguan terhadap fungsi ginjal dan bersifat relatif tidak toksik pada fungsi hati hewan uji bila digunakan dalam jangka waktu 14 hari.

2. Efek gambir terpurifikasi bersifat reversibel setelah pemberian gambir dihentikan, dibuktikan dengan nilai aktivitas ALT dan aktivitas ALP pada kelompok dosis 5 mg/KgBB dan 10 mg/KgBB yang meningkat tetapi masih dalam rentang nilai normal. Rasio organ hati yang meningkat tetapi masih berada dibawah nilai kontrol pada semua kelompok dosis.

3. Potensi kerusakan fungsi ginjal yang disebabkan oleh gambir terpurifikasi bersifat irreversible karena terjadi pada saat pemberiaan sediaan uji dihentikan.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat secara mikroskopik efek toksik yang ditimbulkan oleh gambir terpurifikasi (*Uncaria gambir* Roxb.) terhadap glomerulus ginjal (histologi) dan organ hati. Selain itu peneliti juga menyarankan untuk dilakukannya penelitian terkait toksisitas dan reversibilitas terhadap organ-organ lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arham S, Khumaidi A, Pitopang R, Biologi J, Kampus T, Tadulako B, et al. Keanekaragaman jenis tumbuhan obat tradisional dan pemanfaatannya pada suku kulawi di desa mataue kawasan taman nasional lore lindu. 2016;10(2).
2. Sastrapradja S, S D, R S, NW S, MS P. Tanaman Industri. Jakarta: PN Balai Pustaka; 1980.
3. Fauza H. Pengembangan Usaha Perkebunan dan Industri Gambir di Sumatera Barat : Peluang dan Tantangan. 2011;1–8.
4. Heyne K. Tumbuh-tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III (terjemahan Nur Udin). Jakarta: Badan Litbang Kehutanan; 1987.
5. Isnawati A, Raini M, Ondri S, D M, Lucie W, Gitawati R. Karakterisasi Tiga Jenis Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dari Sumatera Barat. 2012;201–8.
6. Yunarto N, Elya B, Konadi L. Potensi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Daun Gambir (*Uncaria gambir* Roxb .) sebagai Antihiperlipidemia Potency of Ethyl Acetate Fraction of Gambier Leaves Extract Abstrak mengandung katekin adalah gambir Alat dan bahan ini adalah rotary evaporator (Buchi),. 2015;5(1):1–10.
7. Anggraini T, Tai A, Yoshino T, Itani T. Antioxidative Activity and Catechin Content of Four Kinds of *Uncaria gambir* Extracts from West Sumatra , Indonesia. 2014;(December).
8. Hasti S, Muchtar H, Bakhtia A. Uji Aktivitas Hepatoproteksi dan Toksisitas Akut dari Ekstrak Gambir Terstandarisasi. 2012;1(September):34–8.
9. Martiinez S, NM D, Reynolds J. Toxicology and Safety of Flavonoids. Methods of Analysis, Preclinical and Clinical Pharmacokinetics, Safety. John Wiley & Son; 2013.
10. Ningsih S, Agustini K, Damayanti R. Uji Toksisitas Subkronik Kombinasi Ekstrak Daun *Uncaria gambir* dan *Caesalpinia sappan*. 2017;7(1):34–45.
11. Putri YH. Pengaruh Pemberian Gambir Terstandarisasi Terhadap Fisiologis Ginjal Tikus Yang Gagal Ginjal. Andalas Univeristy; 2013.

12. WHO. Research Guidelines for Evaluation the Safety and Efficacy of Herbal Medicinal. Manila; 1993.
13. Wahyuni FS. Orasi Ilmiah Lustrum Farmasi Ke-XI. In: Faculty Pharmacy, Andalas University. Padang; 2019.
14. Greiner. Creatinine Jaffe- Kinetic. 2019.
15. Hall JE. Textbook of Medical Physiology. Thirteenth. Philadelphia: Elsevier; 2016.
16. BPOM RI. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. 2014. 7–9 .
17. Bergmeyer HU, Horder M, Rej R. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. L.Clin. Chem. Clin. Biochem 1986; 24: 481-495
18. IFCC. IFCC Primary Reference Procedures for The Measurement Of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C. Part 9: Reference Procedure for The Measurement of Catalytic concentration of Alkaline Phosphatase. 49(9), 2011.
19. Rahmawati N, Bakhtiar A, Putra P. Isolasi Katekin dari Gambir (Uncaria gambir (Hunter). Roxb) untuk Sediaan Farmasi dan Kosmetik. 2012;1(September):6–10.
20. Fitolab AS. Certificate of Analysis Gambir Terpurifikasi. Indonesia; 01/PE-FP/2017, 2017.
21. Suraini, Chairani, Enlita. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Gambir (Uncaria gambir Roxb) Terhadap Candida albicans Secara In Vitro. 2015;5(2):62–8.
22. Hodgson E. A Textbook of Modern Toxicology fourth edition. 4th ed. Hodgson E, editor. 2010.
23. Lu FC, Kacew S. Lu's Basic Toxicology (Fundamentals, Taret Organs and Risk Assessment). Fifth Edit. New York: Informa Healthcare USA, Inc.; 2010.
24. Parasuraman S. Toxicological screening. 2011;2(2).

25. BPOM. Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2014.
26. Anderson JM, Western C. Biocompatibility and the Relationship to Standards : Meaning and Scope of Biomaterials Testing [Internet]. Comprehensive Biomaterials. Elsevier Ltd.; 2011. 7-26 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-055294-1.00002-7>
27. Agusman NC. Pengaruh Gambir Terstandarisasi Terhadap Tekanan Darah, Laju Jantung dan Volume Urin Tikus Hipertensi. Andalas University; 2012.
28. Hasanudin K, Hashim P, Mustafa S. Corn silk (*Stigma Maydis*) in healthcare: A phytochemical and pharmacological review. *Molecules*. 2012;17(8):9697–715.
29. Lucida H, Bakhtiar A, Putri A. Formulasi Sediaan Antiseptik Mulut dari Katekin Gambir. 2007;12(1).
30. Shargel L, Wu pong S, B.C A. Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan Edisi V. Suprapti,. Surabaya: Airlangga University Press; 2005.
31. BM B, EV L, HS M. The Hyperfiltration Theory. A paradigm. *Kindeg Int*; 1996. 1774-1779 p.
32. Palatini P. Glomerular hyperfiltration : a marker of early renal damage in pre-diabetes and pre-hypertension. 2012;(March):1708–14.
33. Bohle A. Role of Ilyperperfusion in Different Glomerular Diseases. 1988;263:258–63.
34. Taria SA, Rita RS. The Effect of Gambir’ s Catechin Isolate (*Uncaria Gambir Roxb .*) on Alanine Aminotransferase and Aspartate Aminotransferase Serum Level at Male Rats (*Rattus norvegicus*) Wistar Strain Induced by High Fat Diet. 2020;7(March):488–94.
35. Lopes S. Antinociceptive effect on mice of the hydroalcoholic fraction and (-) epicatechin obtained from *Combretum leprosum* Mart & Eich. *Brazilian J Med Biol Res*. 2010;43(12):1184–92
36. Arzi A, B Ghorbanzadeh dan ZK. Antinociceptive effect of hydroalcoholic extract of Iranian Green tea in the formalin test in rats. *Jundishapur J Nat*. 2012;8(1):10–4.

37. Puspitasari AW, Indonesia U, Matematika F, Ilmu DAN, Alam P, Farmasi D. Pengaruh pemberian jamu “d” terhadap fungsi hati ditinjau dari aktivitas alanin aminotransferase dan alkali fosfatase plasma serta histologis hati pada tikus putih. 2009;
38. Stockham, Steven L MAS. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology* 2nd Ed. 2nd Ed. Iowa, USA: Blackwell Publishing; 2008.
39. Nirogi R, Goyal VK, Jana S PS and GA. What Suits Best for Organ Weight Analysis: Review of Relationship Between Organ Weight and Body / Brain Weight for Rodent Toxicity Studies. *Int J Pharm Sci Res.* 2014;5(4):1525–32.
40. Hodgson E, editor. *A Textbook Of Modern Toxicology* 4th Ed. North Carolina State University Raleigh, North Carolina: A John Wiley & Sons, Inc., Publication; 2010. 282–285.
41. Farmasi JS, Wahyuni FS, Putri IN, Arisanti D. Uji Toksisitas Subkronis Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Kandis (*Garcinia cowa Roxb .*) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Mencit Putih Betina. 2017;3(May):202–12.
42. Mohan H. *Textbook of Pathology.* Sixth Edit. New Delhi: Jaypee Brothers Medical; 2010.
43. Setyarsih L, Ardiaria M, Fitranti DY. Hubungan Densitas Energi dan Asupan Cairan dengan Berat Jenis Urin Pada Remaja. *J Nutr.* 2017;6:326–32.
44. Miner J. The Glomerular Basement Membrane. *Natl Inst Heal.* 2015;21(3):384–405.