

EFEK EKSTRAK BIJI ALPUKAT TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL TIKUS PUTIH DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN PAKAN TINGGI LEMAK

Ayu Wulandari¹, Ma'ruf², Recky Patala²

¹Program Studi D3 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu

²Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu

Email : ayusuha8@gmail.com

ABSTRACT

*Diabetic nephropathy gives rise to several abnormalities in the histological structure of the kidney. So this research aims to test the presence or absence of content secondary metabolite compounds in the extract ethanol avocado seeds (*Persea americana* Mill.), and the effects of ethanol extract avocado seeds against kidney cell regeneration male white rats streptozotocin-induced diabetes. Use research is a laboratory experimental research by using as many test animals 30 male white rats were divided into 5 groups and each group consists of 6 male white rats with group I details as normal control, group II as a negative control given a 0.5% Na-CMC suspension, and groups III, IV, V, as the test group given ethanol extract of avocado seeds with each dose 250 mg/kgBB, 300 mg/kgBB, and 350 mg/kgBB. The results showed that there are secondary metabolites in ethanol extract of avocado seeds namely flavonoid, alkaloid, saponin, and tanin. Providing avocado seed ethanol extract at a dose 350 mg/kgBB able to exert influence on kidney cell regeneration diabetic male white rats.*

Keywords : diabetes, avocado seeds, histopathology, kidneys.

ABSTRAK

Nefropati diabetik menimbulkan beberapa kelainan pada struktur histologi ginjal. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk menguji ada tidaknya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.), dan efek ekstrak etanol biji buah alpukat terhadap regenerasi sel ginjal tikus putih jantan diabetes yang diinduksi streptozotocin. Menggunakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan hewan uji sebanyak 30 ekor tikus putih jantan dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan dengan rincian kelompok I sebagai kontrol normal, kelompok II sebagai kontrol negatif yang diberikan suspensi Na-CMC 0,5%, dan kelompok III, IV, V, sebagai kelompok uji diberikan ekstrak etanol biji alpukat dengan masing-masing dosis 250 mg/kgBB, 300 mg/kgBB dan 350 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol biji alpukat yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Pemberian ekstrak etanol biji alpukat pada dosis 350 mg/kgBB mampu memberikan pengaruh terhadap regenerasi sel ginjal tikus putih jantan diabetes.

Kata kunci : diabetes, biji buah alpukat, histopatologi, ginjal.

PENDAHULUAN

Ginjal adalah organ yang memiliki fungsi penting dalam tubuh, menyediakan mekanisme ekskretoris sebagai bagian dari saluran kemih, saluran untuk menghilangkan limbah metabolisme dan sebagainya. Ginjal memiliki fungsi menyaring sisa hasil metabolisme (terutama urea) dari darah kemudian dibuang bersama dengan air dalam bentuk urin. Selain fungsi regulasi dan ekresi, ginjal adalah penghasil zat atau hormon seperti eritropoietin, kalsitriol, dan renin. Hormon yang dihasilkan ginjal yaitu hormon eritropoietin (EPO) berfungsi untuk merangsang peningkatan laju pembentukan sel darah merah oleh sumsum tulang. Renin memiliki fungsi mengatur tekanan darah di dalam tubuh, sementara kalsitriol adalah fungsi ginjal untuk membentuk vitamin D, menjaga keseimbangan kimia di dalam tubuh, dan untuk mempertahankan kalsium di dalam tulang. Kegagalan ginjal di dalam melaksanakan fungsi vital menimbulkan keadaan yang disebut uremia. Gangguan fungsi ginjal dapat terjadi akibat beberapa faktor, yaitu dapat disebabkan karena penyakit hipertensi, dan adanya sumbatan pada saluran kemih, autoimun dan diabetes melitus (Tandi J dkk, 2017).

Penelitian obat yang berasal dari bahan alam untuk mengatasi

kerusakan ginjal di Indonesia sampai saat ini masih terbatas, oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian mengenai obat baru dari kekayaan alam Indonesia. Alpukat (*Persea americana* Mill.) ialah tanaman obat yang kebanyakan tumbuh di daerah tropis. Alpukat merupakan buah tropis kaya akan senyawa fitokimia yang aktif secara biologis. Penelitian untuk pengobatan penyakit ginjal diabetik saat ini telah banyak dilakukan diantaranya dengan menggunakan obat hipertensi yang menghambat angiotensin II seperti ACE inhibitor, statin dan berbagai macam antioksidan (Sourris. 2008). Akan tetapi penelitian dengan memanfaatkan tanaman asli Indonesia masih sangat terbatas.

Penelitian sebelumnya Biji alpukat memiliki kandungan senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid dan fenol. Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, antioksidan, serta peningkatan sistem imun (Arukwe. 2012). Pemberian infusa biji alpukat (*Persea americana* Mill) pada dosis 360,7 mg/kgBB dengan waktu 1, 4 dan 6 jam dapat memberikan efek proteksi pada hepar dan ginjal tikus terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kg. (Lydia setiawan dkk, 2014).

Penelitian terdahulu tentang terapi ginjal diabetes ekstrak etanol

daungendola merah pada dosis 400 mg/kgBB dengan skoring rata-rata 0,8 mg/dl memberikan efek regenerasi sel ginjal tikus putih jantan (Tandi. *et al.* 2017) . Penelitian tentang daun jambu air menyatakan bahwa pada dosis 300 mg/kgBB berefek dalam penurunan kadar ureum dan kreatinin tikus putih dengan nilai rata-rata 0,8 mg/dl dan 0,69 mg/dl (Tandi J. 2017). Penelitian lain tentang kombinasi daun gedi merah dan daun kumis kucing dengan dosis masing-masing 50mg/kgBB dan 100mg/kgBB dapat menghasilkan efek nefroprotektif ureum dan kreatinin mendekati kontrol normal dengan nilai skoring rata-rata 0,76 mg/dl & 38,0 mg/dl (Tandi J, dkk. 2017).

Berdasarkan uraian diatas pemberian ekstrak Biji buahalpukat (*Persea americana* Mill.) (250 mg/kgBB, 300 mg/kgBB & 350 mg/kgBB) dalam meregenerasi sel jaringan ginjal pada tikusputih (*Rattusnorvegicus*) yang diinduksi pakantinggi lemak dan streptozotocin.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat.

Ayakan mesh nomor-40, batang pengaduk, bejana maserasi, blender, cawan porselin, gelas kimia, gelas ukur, glukometer, glukotest strip test, Gunting, Labu ukur ,Penangas air, Pipet tetes, Rak tabung, Rotavapor,

sputit injeks, sputit oral, Tabung reaksi, Timbangan analitik, Timbangan gram, mikroskop, mortirdan stamper, penangas air, seperangkat alat bedah minor, steroform, tabung organ.

Bahan

Aqua destilata,aqua pro injeksi, asam klorida, alkohol 100%, alkohol 95%, alkohol 70%, alkohol 90%, besi (III) klorida, citrate-buffer saline, bijialpukat, dragendrof lp, etanol 96%, eter, formalin-PBS 10%, xylol, Metformin, serbuk magnesium, Na CMC 0,5%, Natrium Hidroksida, Natrium Klorida, pakan standar, larutan mayers Hematoxylin dan Eosin, streptozotocin.

Pembuatan ekstrak etanol biji buah alpukat

Pembuatan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana*Mill) dibuat dengan metode maserasi. Serbuk simplisia biji buah alpukat 1,975 gram dimasukkan dalam bejana maserasi menggunakan 5 bejana maserasi, masing-masing berisi 395 g serbuk kemudian dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 liter tiap bejana sampai semua simplisia terendam ($\pm$ 2,5 cm dari batas atas simplisia). Maserasi dilakukan selama 3 hari didalam ruang yang terhindar dari cahaya matahari dan sesekali diaduk untuk mencegah terjadinya kejenuhan. Ekstrak yang diperoleh disaring menggunakan kertas

saring, lalu dipekatkan dengan rotavapor (suhu 40°-60°C) kemudian diuapkan di *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental biji buah alpukat (*Persea americana* Mill)

Pembuatan Larutan Streptozotocin (STZ)

Streptozotocin ditimbang 0,24 gram lalu dilarutkan menggunakan *citrate buffered saline*, pH 4,5 lalu diinduksikan pada tikus melalui intraperitoneal. Dosis streptozotocin yakni 30 mg/kg BB.

Pengujian Histologi Ginjal

Pengujian histopatologi ginjal dilakukan pada hari ke-49. Hewan uji dimasukkan ke dalam toples berisi

kapas yang diberikan eter. Menunggu hingga tikus hilang kesadaran dengan cara memberikan rangsang nyeri pada telapak kaki tikus, bila tidak memberi respon maka efek anestesi sudah bekerja. Hewan uji dikorbankan nyawanya dengan cara dislokasi leher. Hewan uji yang mati diletakkan pada papan fiksasi dengan perut mengarah ke atas. Organ di potong dan dimasukkan dalam wadah yang berisi formalin-PBS 10%. Selanjutnya dilakukan uji histopatologi ginjal untuk mengamati perubahan histopatologi ginjal setelah dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Pengujian Fitokimia Ekstrak Etanol Biji buah alpukat

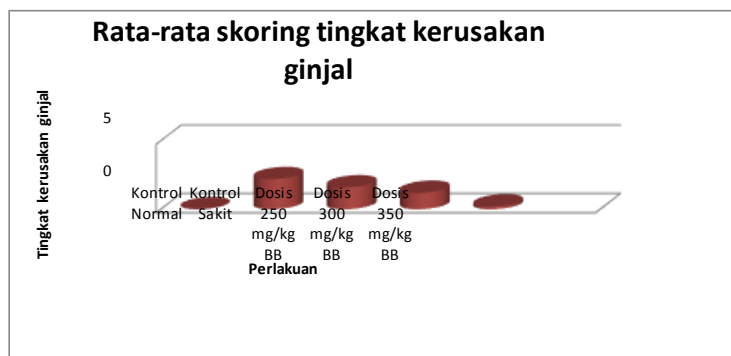
No.	Senyawa Bioaktif	Pereaksi	Ekstrak Biji Alpukat	Hasil Ket
1.	Alkaloid.	Dragendrof	+	Berbentuk endapan
2.	Flavonoid.	HCl pekat dan logam Hg	+	Terjadi endapan warna kuning jingga
3.	Saponin.	Dikocok + HCl2N	+	Terbentuknya buih
4.	Tanin.	Penambahan NaCl 10% + FeCl ₃	+	Terbentuknya endapan berwarna biru

Keterangan : (+) Terkandung golongan senyawa yang diuji
(-) Tidak terkandung golongan senyawa yang diuji

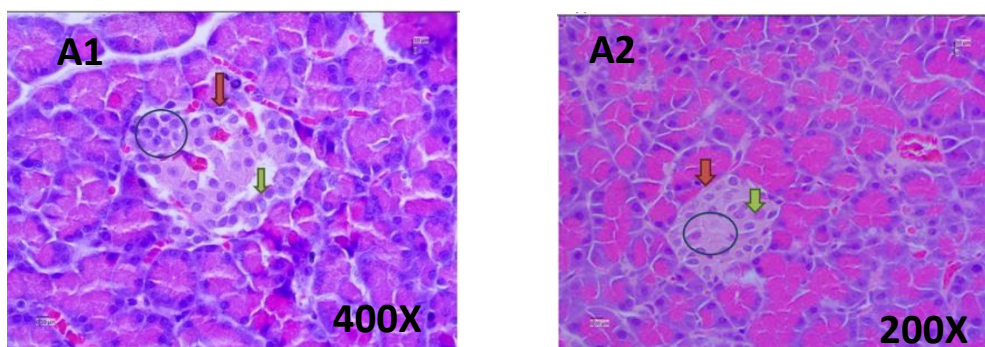
Tabel 2 Skoring kerusakan ginjal tikus

Kelompok Hewan Uji	Skoring Kerusakan					Rerata ± SD
	1	2	3	4	5	
Kontrol Normal	0	0	0	0	0	0 ± 0
Kontrol Negatif	2	2	2	3	2	2,2 ± 0,4
Dosis ekstrak 250	2	1	2	1	2	1,6 ± 0,489

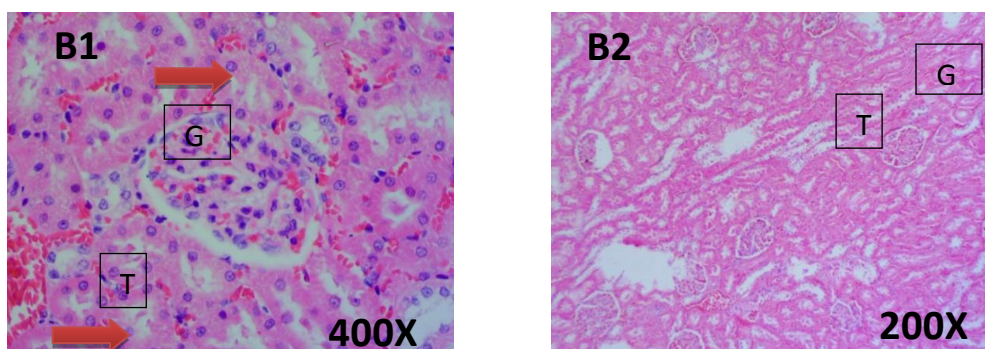
mg/kgBB						
Dosis ekstrak 300 mg/kgBB	1	1	1	1	2	1,2 ± 0,4
Dosis ekstrak 350 mg/kgBB	2	2	1	2	1	1,6 ± 0,48
Dosis ekstrak 350 mg/kgBB	0	1	0	0	0	0,2 ± 0,4



Gambar 1.diagram batang tingkat kerusakan histopatologi ginjal tikus
Gambar Histopatologi GinjalTikus

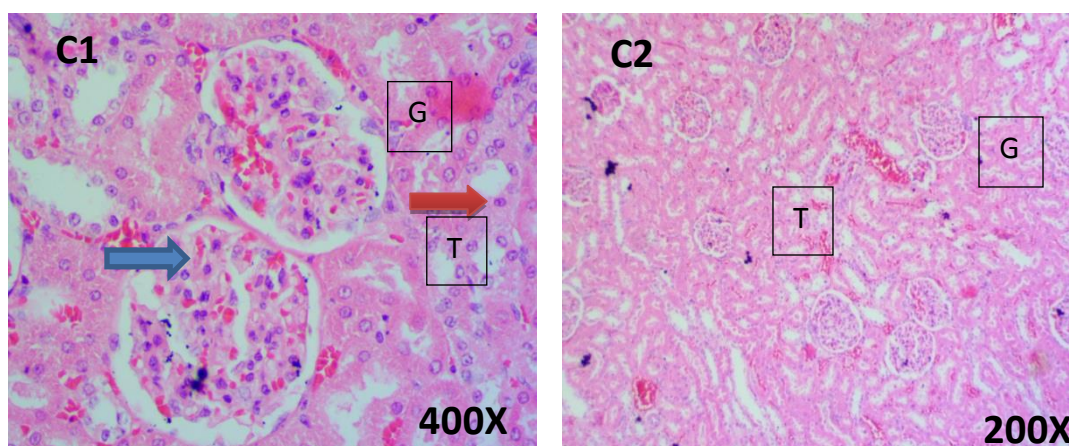


Gambar 2.: Histopatologi ginjal tikus dengan nilai rata-rata kerusakan skor 0 dengan pewarnaan Hematoxylin (H) & Eosin (E) perbesaran 400x, 200x. Kerusakan ginjal 0 terlihat pada gambar A1 dan A2 sel tidak mengalami perubahan struktur sel glomerulus dan sel tubulus keduanya dalam keadaan normal.



Gambar 3 : Histopatologi ginjal tikus dengan nilai rata-rata kerusakan skor 1 dengan pewarnaan Hematoxylin (H) & Eosin (E) perbesaran 400x, 200x. Pada gambar B1 dan B2 tingkat kerusakan ginjal 1/2 bagian edema yang ringan pada bagian tubulus dan glomerulus.

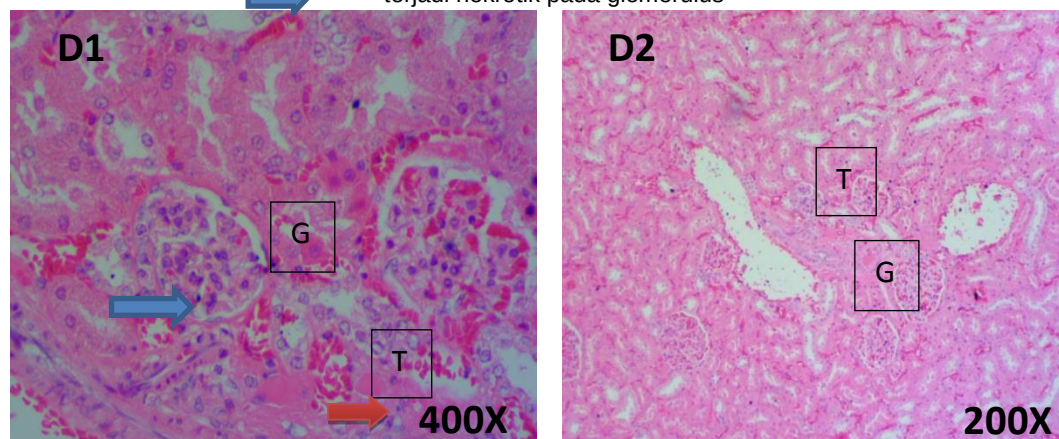
Keterangan :  = terjadi nekrotik pada tubulus



Gambar 4 :Histopatologi ginjal tikus dengan nilai rata-rata kerusakan skor 2 dengan pewarnaan Hematoxylin (H) & Eosin (E) perbesaran 400x, 200x. kerusakan $\geq \frac{1}{2}$ bagian; nekrotik pada tubulus (t) dan glomerulus (g).

Keterangan :

 = terjadi nekrotik pada tubulus
 = terjadi nekrotik pada glomerulus



Gambar 5 : Histopatologi ginjal tikus dengan nilai rata-rata kerusakan skor 3 dengan pewarnaan Hematoxylin (H) & Eosin (E) perbesaran 400x, 200x kerusakan $\leq \frac{3}{4}$ bagian; nekrotik pada tubulus (t) (merah) dan nekrotik pada glomerulus (g) (biru)

Keterangan =

 = Terjadi nekrotik tubulus
 = Terjadi nekrotik glomerulus

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tanaman alpukat (*Persea Americana* Mill.), sampel yang digunakan adalah bagian bijinya. Biji alpukat di ekstraksi menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol digunakan sebagai cairan penyari karena tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat

bercampur dengan air dalam segala perbandingan dan zat pengganggu yang larut terbatas. Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus novergicus*) sebagai hewan uji yang merupakan jenis tikus yang umum digunakan untuk penelitian.

Pengujian efek ekstrak etanol biji alpukat terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus yang di induksi

streptozotocin dan pakan tinggi lemak menggunakan 30 ekor hewan uji yang di bagi dalam 6 kelompok perlakuan dan masing-masing terdapat 5 ekor tikus. Kelompok perlakuan pertama digunakan sebagai kontrol normal (tidak di induksi) , perlakuan kedua sebagai kontrol negatif di induksi Streptozotocin dan pakan tinggi lemak serta diberi Na CMC 0,5% , perlakuan ke tiga bertindak sebagai kontrol positif di induksi streptozotoci, pakan tinggi lemak dan diberikan metformin, perlakuan ke empat sebagai kelompok uji di induksi stz, pakan tinggi lemak dan di berikan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 250 mg/kgBB. Kelompok perlakuan ke lima sebagai kelompok uji di induksi stz, pakan tinggi lemak dan di berikan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 300 mg/kgBB. Perlakuan keenam sebagai kelompok uji di induksi stz, pakan tinggi lemak dan di berikan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan dosis 350 mg/kgBB. Lama perlakuan pada tikus selama 28 hari berturut-turut dan pada hari ke 49 tikus dikorbankan nyawanya untuk dilakukan pengamatan histopatologi ginjal.

Berdasarkan hasil uji nonparametrik analisis *Kruskal wallis*, hal ini dikarenakan data yang diperoleh tidak memenuhi syarat untuk analisis

Anova satu arah (*One Way Anova*). Analisis *Kruskal-wallis* merupakan analisis alternatif yang digunakan jika syarat analisis anova tidak terpenuhi. Adapun syarat yang harus dipenuhi dalam analisis anova yaitu data terdistribusi normal dan varians atau ragamnya homogen. Pada semua kelompok, diperoleh nilai probabilitas (p) skoring kerusakan ginjal tikus adalah 0,000 ($p < 0,05$). Hasil memiliki adanya perbedaan signifikan skoring histopatologi ginjal tikus setelah pemberian perlakuan pada semua kelompok. Untuk mengetahui lebih jelas letak perbedaan signifikan diantara kelompok uji, maka dilakukan analisis data menggunakan uji lanjut *Mann-Whitney*. Hasil uji lanjut *Mann-Whitney* skoring pengamatan kerusakan ginjal tikus pada tabel 4.3 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada gambaran histologi ginjal tikus dari masing-masing kelompok perlakuan, diantaranya yaitu kelompok normal memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok negatif, kelompok ekstrak dosis 250mg/kg BB dan 300mg/kgBB ($p < 0,05$), tapi berbeda tidak signifikan dengan kelompok dosis 350 mg/kgBB ($p > 0,05$). Kelompok negatif berbeda signifikan dengan kelompok normal, kelompok dosis 300 mg/kgBB dan kelompok dosis 350mg/kgBB ($p < 0,05$), tapi berbeda tidak signifikan dengan

kelompok 250 mg/kgBB ($p>0,05$). Kelompok dosis 250 mg/kgBB berbedasingnifikan dengan kelompok normal, dosis 350 mg/kg BB, tapi berbeda tidak signifikan dengan kelompok negatif dan kelompok dosis 300 mg/kgBB ($p>0,05$). Kelompok dosis 300 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kelompok normal, kelompok negatif dan kelompok dosis 350 mg/kgBB ($p < 0,05$), tapi berbeda tidak signifikan dengan kelompok normal dan dosis 250 mg/kgBB ($p>0,05$). Kelompok dosis 350 mg/kgBB berbeda signifikan dengan kelompok negatif, kelompok 250 mg/kgBB dan kelompok dosis 300 mg/kgBB ($p<0,05$), tapi berbeda tidak signifikan dengan kelompok normal ($p>0,05$).

Dari hasil skoring kerusakan sel organ ginjal tikus pada kelompok normal yang diberikan Na CMC 0,5% sel ginjal tikus tidak mengalami kerusakan, tampak sel normal dengan rata-rata nilai skor 0. Pada kelompok negatif yang diberikan pakan tinggi lemak, streptozotocin dan Na CMC 0,5% mengalami sebagian nekrosis pada sel-sel tubulus ginjal dengan rata-rata nilai skor 2,2 Hal ini menunjukkan tingkat keparahan organ ginjal akibat induksi streptozotocin. Pemberian Na CMC 0,5% tidak memberikan pengaruh perbaikan terhadap kerusakan organ ginjal tikus diabetes. Pada kelompok

pemberian ekstrak biji alpukat dosis 250 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB jika dibandingkan dengan kontrol negatif terlihat perbedaan yang nyata pada perbaikan sel tubulus organ ginjal yang rusak pada tikus diabetes. Hal ini menandakan bahwa pemberian ekstrak etanol biji alpukat dosis 250mg/kgBB dan 300 mg/kgBB dapat memperbaiki kerusakan yang terjadi pada organ ginjal dengan rata-rata skor kerusakan masing-masing yaitu 1,6 dan 1,2, sedangkan pada pemberian ekstrak etanol biji alpukat dosis 350 mg/kgBB efek perbaikan yang ditimbulkan sangat kecil dibandingkan dengan dosis 250 mg/kgBB dan dosis 300 mg/kgBB dengan rata-rata skor kerusakannya adalah 0,2. Dari hasil diatas menunjukkan semakin besar dosis ekstrak biji alpukat semakin banyak zat aktif yang terkandung dalam ekstrak sehingga regenerasi sel tubulus ginjal semakin besar.

Efek perbaikan yang ditimbulkan oleh pemberian ekstrak etanol biji alpukat terhadap regenerasi sel tubulus ginjal tikus disebabkan adanya kandungan senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid. Hal ini sesuai dengan uji penapisan fitokimia. Senyawa yang terdapat di dalam ekstrak etanol buah biji alpukat yang berperan dalam menurunkan kadar glukosadarah adalah flavonoid yang berperan

sebagai antioksidan yang dapat menghambat terbentuknya radikal bebas dengan menetralkan meningkatnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat diabetes dan mampu meregenerasi jaringan β pankreas yang rusak sehingga defisiensi dapat diatasi (Suhardinata, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian dosis ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mempunyai perbedaan efek terhadap regenerasi sel pada tubulus ginjal tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotocin, dengan dosis efektif adalah 350 mg/kg BB.

Saran

Dari hasil penelitian diharapkan pada peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pemisahan senyawa aktif ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sehingga dapat diketahui senyawa yang memberikan efek terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus putih (*Rattus norvegicus*).

DAFTAR PUSTAKA

Lydia setiawan, Inneke devi permata sari, pheebe hendra (2014), Jurnal farmasi Sains Dan komunitas, Fakultas farmasi universitas sanata dharma yogyakarta, ISSN 1693-5683 Vol 11, No 1 Hal 38-42

Suhardinata, F. 2015. Pengaruh Bubuk Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap Kadar *Molndialdehyde* Plasma Tikus Wistar Diabetes Diinduksi *Streptozotocin*. Program Studi Gizi Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang. Hal. 1, 11-12

Tandi J, Wulandari A, Asrifah. 2017. Efek Ekstrak Etanol Daun Gendola Merah (*Bassela alba* L.) Terhadap Kadar Kreatinin, Ureum dan Deskripsi Histologi Tubulus Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Diabetes yang Diinduksi *Streptozotocin*. Jurnal Trop Pharmacy Cemistry. Palu. Hal 3(2), 93-102.

Tandi, J. Roem, M dan Yuliet. 2017. Efek Nefroproktatif Kombinasi Ekstrak Daun Gedi Merah dan Daun Kumis Kucing pada Tikus Putih Induksi Etilen Glikol *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. Vol, 4. No 1 p-ISSN:2087-7099: e-ISSN: 2407-6090.

Tandi, J. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) Burmf.) Alston Terhadap Glukosa darah, Ureum Keratinin Tikus Putih (*Rattus novergicus*). *Journal Trop. Pharmacy* Vol 4 No. 2

Tandi J, Rizky M, Mariani. 2017. Efek Ekstrak Etanol Daun sukun (*Terhadap* Kadar Kreatinin, Ureum dan Deskripsi Histologi Tubulus Ginjal Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Diabetes yang Diinduksi *Streptozotocin* *Jurnal Top Pharmacy Cemistry*. Hal 3(2), 89-65

Tandi J, Angli, Etfian. 2017. Efek Nefropati Ekstrak Daun kersen pada Tikus Induksi Etilen Glikol. *Jurnal Top Pharmacy Chemistry*. Vol. 04 No.1. Palu. Hal 27-34.