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

**Ayu Wulandari[1] , Ma'ruf[2], Recky Patala[2]**
[1]Program Studi D3 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu
[2]Program 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 (Parseaamericana 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 (*Parseaamericana* Mill.), dan efek ekstrak etanol biji buah alpukat terhadap regenerasi sel ginjal tikus putih jantan diabetes yang diinduksistreptozotocin. 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 sebagaikontrolnegatif yang diberikansuspensi Na-CMC 0,5%, dankelompok III, IV,V, sebagai kelompok uji diberikanekstraketanolbijialpukatdenganmasing-masingdosis 250 mg/kgBB, 300 mg/kgBBdan 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, bijibuahalpukat, 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) daridarah kemudiandibuang bersama dengan air dalam bentuk urin. Selain fungsi regulasi dan ekresi, ginjaladalah 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 didalam tubuh, sementara kalsitriol adalah fungsi ginjal untuk membentuk vitamin D, menjaga keseimbangan kimia didalamtubuh, dan untuk mempertahankan kalsium di dalam tulang. Kegagalan ginjal didalam 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 (*Perseaamericana* Mill.) ialah tanaman obat yang kebanyakan tumbuh didaerah tropis. Alpukat merupakan buah tropis kaya akan senyawa fitokimia yang aktif secara biologis. Penelitian untuk pengobatan penyakit ginjal diabetic saat ini telah banyak dilakukan diantaranya dengan menggunakan obat hipertens yang menghambat angiotensin II seperti ACE inhibitor, statin danberbagaimacamantioksidan (Sourris. 2008).Akan tetapipenelitian dengan memanfaatkan tanaman asli Indonesia masih sangat terbatas.

Penelitian sebelumnya Bijialpukat 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. (Liydia setiawan dkk, 2014).

Penelitian terdahulu tentang terapi ginjaldiabetes 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, spuit injeks, spuit 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 (± 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 0,24gram 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 anastesi sudah bekerja. Hewan uji dikorbankan nyawanya dengan cara dislokosi 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 EtanolBijibuahalpukat**

| No. | Senyawa Bioaktif | Pereaksi | Hasil | |
|---|---|---|---|---|
| | | | Ekstrak Biji Alpukat | 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. | PenambahanNaCl 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**

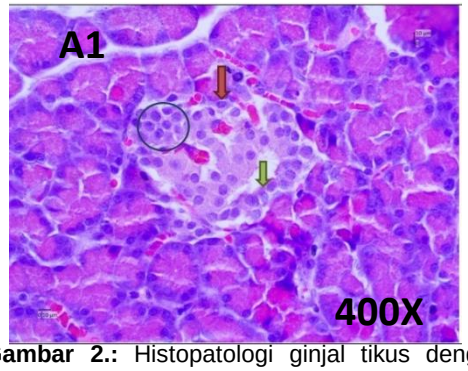
| Kelompok Hewan Uji | Skoring Kerusakan | | | | | Rerata±SD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Kontrol Normal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0±0 |
| Kontrol Negatif | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2,2±0,4 |
| Dosis ekstrak 250 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1,6 ± 0,489 |

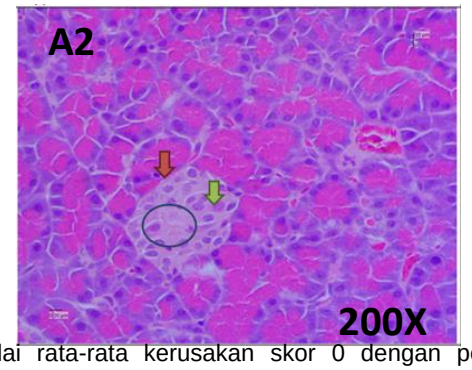
| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| mg/kgBB | | | | | | |
| Dosis ekstrak 300 mg/kgBB | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1,2 ± 0,4 |
| Dosis ekstrak 350 mg/kgBB | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 | 1,6 ±0,48 |
| Dosis ekstrak 350 mg/kgBB | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0,2 ± 0,4 |



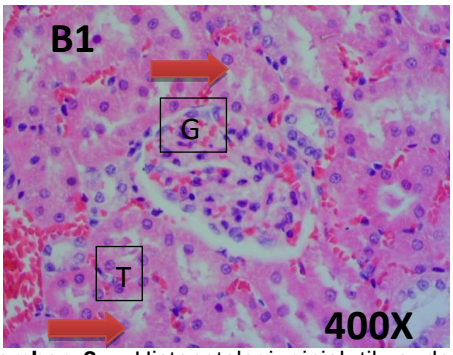

**Gambar 1.diagram batang tingkat kerusakan histopatologi ginjal tikus**

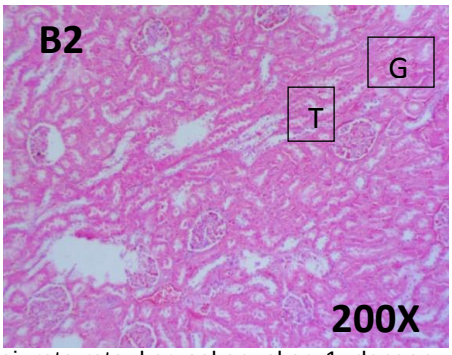
**Gambar Histopatologi GinjalTikus**



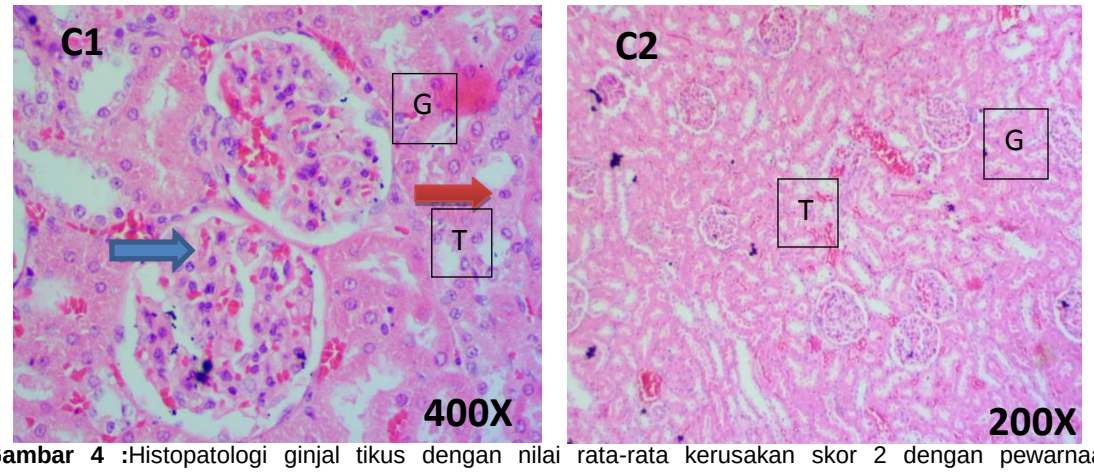

**Gambar 2.:** Histopatologi ginjal tikus dengan nilai rata-rata kerusakan skor 0 dengan pewarnaan Hematoxylin (H) & Eosin (E) perbesaran 400x, 200x. Kerusakan ginjal 0 terlihat pada gambar A1 dan A2 sel tidak mengalami perubahan struktur sel glomerulus dan sel tobulus keduanya dalam keadaan normal.




**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.

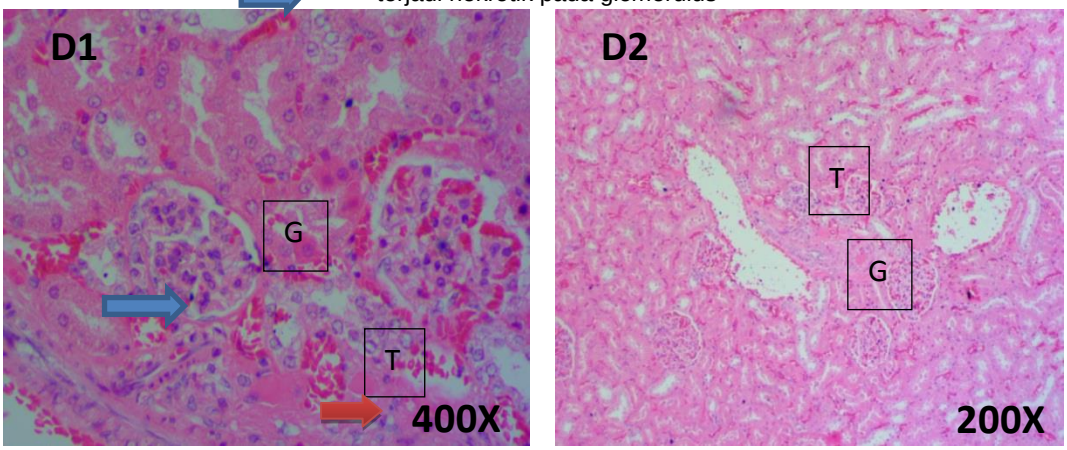
Keterangan : = terjadi nekrotik pada tubulus




**Gambar 4 :**Histopatologi ginjal tikus dengan nilai rata-rata kerusakan skor 2 dengan pewarnaan Hematoxylin (H) & Eosin (E) perbesaran 400x, 200x.kerusakan ≥½ 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 ≤ ¾ bagian; nekrotik pada tubulus (t) (merah) dan nekrotik pada glomerulus (g) (biru)

Keterangan =

= Terjadi nekrotik tubulus
= Terjadi nekrotik glomerulus

**PEMBAHASAN**

Penelitianini menggunakan tanaman alpukat (*Persea Americana* Mill.), sampel yang digunakan adalah bagian bijinya. Biji alpukat di ekstrasi menggunakan metode maserasi.Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol digunakan sebagai cairan penyari karena tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan dan zat pengganggu yang larut terbatas. Penilitian ini menggunakan tikusputih (*Rattus novergicus*) sebagai hewanuji 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 kelompokperlakuan 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. Perlakuankeenam sebagai kelompok uji di induksi stz, pakan tinggi lermak 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 walis,* hal ini dikarenakan data yang diperoleh tidak memenuhi syarat untuk analisis Anova satu arah (*One Way Anova*). Analisis *Kruskal-wallis* merupakan anlisis 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 adalahn 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 menunjukan 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 berbedatidak 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 kelopok 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 kelompoknormal (p>0,05).

Dari hasil skoring kerusakan sel organ ginjal tikus pada kelompok normal yang diberikan Na CMC0,5% 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 nilain skor 2,2 Hal ini menunjukan 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 ektrak 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 rat-rata skor kerusakanya adalah 0,2. Dari hasil diatas menunjukan semakin besar dosis ekstrak bijialpukat 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 menetralisir meningkatnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat diabetes dan mampu meregenerasi jaringan β pankreas yang rusak sehingga defesiensi 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 lebihlanjut untuk pemisahan senyawa aktif ekstrak bijialpukat (*Persea americana* Mill.) sehingga dapat diketahui senyawa yang memberikan efek terhadap gambaran histopatologi ginjal tikusputih (*Rattus norvegicus*).

## DAFTAR PUSTAKA

Lydia setiawan, Inneke devi permata sari, phebe 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 *Molandialdehyde* 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 Nefroproktetif 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 *Pharmachy Chemistry*.Vol. 04 No.1.Palu. Hal 27-34.