

Gambaran Serum Ureum, dan Kreatinin pada Tikus Putih yang diberi Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat

(THE PROFIL OF SERUM, UREUM AND CREATININE OF AETHYL ACETATE FRACTION AVOCADO LEAVES IN WHITE RATS)

Ietje Wientarsih, Rini Madyastuti, Bayu Febran Prasetyo, Dian Firnanda

¹Laboratorium Farmasi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor,
Kampus Dramaga, Bogor 16680. Telepon 0251-8623940
Corresponding E-mail: wien_tje@yahoo.com

ABSTRAK

Batu ginjal merupakan gejala penyakit yang disebabkan oleh adanya sedimen urin dalam ginjal dan saluran kemih. Peningkatan kadar ureum dan kreatinin merupakan salah satu indikator terjadinya gangguan fungsi ginjal. Berdasarkan pengalaman empiris penggunaan tanaman obat, daun alpukat merupakan salah satu obat herbal yang dapat memperlancar pengeluaran urin dan penghancur batu pada saluran kemih. Flavonoid daun alpukat mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan ginjal. Sebanyak 20 ekor tikus putih jantan (*Sprague-Dawley*) dengan bobot badan \pm 200-300g, digunakan dalam penelitian ini. Tikus dibagi empat kelompok. Kelompok normal (A) hanya diberi aquades *ad libitum*. Kelompok kontrol negatif (B), kelompok perlakuan (C, dan D) diinduksi dengan etilen glikol 0,75% dan ammonium klorida 2% untuk menginduksi terbentuknya kristal kalsium oksalat. Penelitian ini berlangsung selama 14 hari. Selanjutnya kelompok C dan D diberi fraksi etil asetat daun alpukat masing-masing 100mg/kg bb dan 300mg/kg bb. Serum darah tikus diambil sebelum perlakuan (hari ke-0) dan sesudah perlakuan (hari ke-15). Hasil penelitian memperlihatkan bahwa fraksi etil asetat tidak mampu menurunkan kadar serum darah ureum dan kreatinin. Pada kelompok D terjadi peningkatan kadar serum darah ureum dan kreatinin yang tinggi setelah hari ke 14 perlakuan, dibandingkan kelompok A, B, dan C. Penggunaan etil asetat dapat menyebabkan nekrosis tubular akut karena pelarut etil asetat tidak mampu menarik flavonoid yang cukup untuk mencegah kerusakan ginjal.

Kata kunci: etil asetat, fraksi, kalsium oksalat, ureum, kreatinin

ABSTRACT

Nephrolithiasis is one of urologic disease due to crystallization urine in urinary system. Traditionally, avocado leaves has long been used for the treatment of nephrolithiasis because flavonoid in this plant can facilitate the watering of crushing stone in the urinary tract. The aims of this study was to determine the effect of aethyl acetate fraction of avocado leaves on ureum and creatinine level. Twenty white male rats (*Sprague dawley*, weight 200-300g) were divided into four groups. Normal control group (A) was given aquadest *ad libitum*. Negative control group (B) and treatments group (C and D) were given ethylene glycol 0.75% and ammonium chloride 2% to induce the formation of calcium oxalate crystal. Group C and D were given aethyl acetate fraction with different levels (100mg/kg bb and 300mg/kg bb for fourteen days). Blood samples were taken before and after treatment. The result showed that aethyl acetate fraction could not decrease serum blood level of ureum and creatinine. Serum blood level ureum and creatinine in group D increased significantly compared to group A, B, C after fourteen days treatment. The used of ethylene glycol caused acute tubular necrosis. It therefore appears that ethyl acetate solvent was not able to extract flavonoids to prevent renal dysfunction.

Key word : aethyl acetate, fraction, calcium oxalate, ureum, creatinine

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki plasma nutfah berupa tanaman yang cukup beragam di dunia. Saat ini penggunaan produk alami sebagai obat cenderung meningkat sejalan dengan himbauan pemerintah untuk kembali ke alam.

Berbagai macam penyakit serta keluhan ringan dan berat diobati dengan memanfaatkan ramuan dari tanaman obat tertentu yang mudah didapat di perkarangan rumah dan hasilnya cukup memuaskan. Pengobatan secara tradisional mempunyai efek samping yang lebih kecil dibandingkan penggunaan pengobatan kimiawi (Thomas, 1989).

Batu di saluran kemih merupakan gangguan ketiga terbesar pada sistem urinaria. Sekitar 80% dari batu terdiri dari kalsium oksalat dan kalsium fosfat. Batu pada sistem urinaria dapat menyebabkan obstruksi, hidronefrosis, infeksi, dan perdarahan di sistem urinari. Prosedur umum yang sering digunakan di negara-negara maju adalah menggunakan *high-power laser* untuk menghilangkan batu. Prosedur ini cukup mahal dan tingkat keterulangan terjadinya batu pada sistem urinari sangat tinggi sehingga upaya pencegahan perlu dilakukan (Divakar *et al.*, 2010).

Tanaman yang telah diteliti mempunyai efektivitas dalam pencegahan batu ginjal salah satunya adalah alpukat (*Persea americana*). Alpukat merupakan tanaman hutan yang tingginya dapat mencapai 20 meter (Sunarjono 2008). Daun dan buah alpukat mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol, quersetin, dan gula alkohol persiit. Buah alpukat yang telah masak mengandung asam amino (tritofan, lisin), kalsium, fosfor, besi, tanin, belerang, vitamin A, vitamin B, dan vitamin C (Sunanto 2009).

Ekstrak etanol daun alpukat melalui penapisan fitokimia mengandung flavonoid dan mempunyai aktivitas diuretik (Wientarsih 2008). Hal ini juga diperkuat oleh Madyastuti (2010) yang melaporkan bahwa pemberian infusum daun alpukat dapat menaikkan laju filtrasi glomerulus, menghambat kenaikan ureum, dan kreatinin. Selain itu juga dapat menghambat kristalisasi urin dan mengurangi persentase lesi pada ginjal tikus.

Induksi pembentukan kristal dengan etilen glikol 0,75% akan dimetabolisme di hati menjadi empat senyawa organik yaitu glikoaldehid, asam glikolat, asam gliksilat, dan asam oksalat

(Brent 2009). Paparan oksalat akan menghasilkan radikal bebas dan mengakibatkan terbentuknya lipid peroksidasi (Meimaridou *et al.*, 2006). Menurut Tsujihata (2008), lebih dari 60% penderita batu ginjal disebabkan oleh kalsium oksalat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fraksi etil asetat daun alpukat terhadap gambaran nilai ureum dan kreatinin pada tikus putih jantan yang diinduksi etlen glikol.

METODE PENELITIAN

Pembuatan ekstrak etil asetat daun alpukat dilakukan dengan cara maserasi. Simplisia kering daun alpukat dimasukkan ke dalam maserator lalu direndam dengan etanol 70%. Penguapan pelarut etanol, menggunakan rotavapor. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dipartisi (cair-cair) dengan pelarut etil asetat (1:1). Lapisan etil asetat dipisahkan dan ditampung.

Sebanyak 20 ekor tikus putih jantan dewasa dengan bobot badan kurang lebih 200-300g dibagi kedalam empat kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus.

Kelompok kontrol normal (A) diberi air minum aquades *ad libitum*, kelompok kontrol negatif (B) dan kelompok perlakuan C dan D diinduksi etilen glikol 0,75% dan amonium klorida 2% untuk mempercepat proses pembentukan kristal yang akan membentuk batu ginjal, kemudian kelompok C dan D diberi ekstrak etil asetat daun alpukat masing-masing 100 mg/kg bb dan 300 mg/kg bb., sebanyak 3 ml/200g bb. Serum darah diambil pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) dan hari ke-15 (sesudah perlakuan). Tikus dianestesi dengan eter, sebelum pengambilan darah sebanyak ± 2 ml melalui ventrikel kiri jantung (*intracardial*). Sampel disentrifus dengan kecepatan 10.000 g selama 15 menit pada 4°C dan selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar serum darah ureum dan kreatinin dengan menggunakan *Spectrofotometer (Hitachi UV/VIS®)* dengan panjang gelombang 340 nm untuk serum darah ureum dan panjang gelombang 492 nm untuk serum darah kreatinin.

Daun alpukat diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor dan dilakukan determinasi di Pusat Penelitian LIPI Cibinong. Bagian yang digunakan adalah daun yang sudah tua.

Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan sidik ragam dan jika berbeda dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) $\alpha:0,05$ untuk melihat adanya perbedaan kadar ureum dan kreatinin plasma di antara kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji penapisan fitokimia dari fraksinasi etil asetat daun alpukat menunjukkan adanya kandungan flavonoid dan tanin di dalam fraksi etil asetat. Kuinon, saponin, dan alkaloid tidak ditemukan dalam uji penapisan fitokimia mungkin pelarut etil asetat bukan merupakan pelarut yang cocok untuk fraksinasi daun alpukat karena tingkat polaritasnya berbeda sehingga tidak dapat menarik senyawa kimia lainnya. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol terbesar yang berada di alam. Senyawa tersebut dapat melindungi tubuh dari radikal bebas melalui mekanisme antioksidan (Waji dan Sugrani, 2009). Senyawa ini dalam tubuh juga berfungsi sebagai antioksidan (Kaviarasan *et al.*, 2008), antimikroba, antivirus, antiaterosklerosis, kardioprotektif, antiulserogenik, sitotoksik, antineoplastik, anti mutagenik, antidiabetes, antiinflamasi, antihepatotoksik, dan antihipertensi (Formica dan Regelson, 1995).

Pada Tabel 1. disajikan bahwa rata-rata kadar ureum sebelum perlakuan pada kelompok normal (A) adalah 25,163mg/dl, kemudian pada akhir perlakuan meningkat menjadi 26,587mg/dl. Peningkatan rata-rata kadar ureum juga terjadi pada kelompok B, C, dan D. Pada kelompok B yang sebelum perlakuan 26,528mg/dl meningkat sesudah perlakuan menjadi

28,608mg/dl., kelompok C 26,373mg/dl menjadi 33,643mg/dl, dan kelompok D sebelum perlakuan 27,700mg/dl menjadi 44,108mg/dl sesudah perlakuan. Berdasarkan uji statistika yang dilakukan dengan $P<0,05$ rata-rata kadar serum ureum sesudah perlakuan didapat bahwa kelompok A tidak berbeda nyata dengan kelompok C. Kelompok D berbeda nyata dengan kelompok A, B, dan C. Perbedaan ini menunjukkan bahwa pelarut etil asetat dengan pemberian 300 mg/kg bb memberikan pengaruh yang kurang baik terhadap fungsi ginjal. Hal ini memperlihatkan bahwa jumlah flavonoid yang dapat ditarik dari daun alpukat juga sedikit sehingga kandungan quersetin dalam flavonoid juga kecil. Oleh sebab itu dengan sedikitnya kandungan flavonoid akan memperbesar pengaruh negatif dari etilen glikol dan akan memengaruhi beberapa keadaan fisiologi tubuh seperti yang dilaporkan oleh Leth dan Gregersen (2005), bahwa penyerapan etilen glikol secara cepat dapat menimbulkan nekrosis tubuler akut.

Kadar ureum normal pada tikus menurut Malole dan Pramono (1989) yaitu 15-21 mg/dl. Dilihat dari keempat kelompok perlakuan, semuanya menunjukkan nilai yang tinggi dibandingkan normal. Menurut Nikolic *et al.*, (2003), tingginya kadar ureum, kreatinin, dan keseimbangan elektrolit dalam darah merupakan tanda kerusakan otot, hati, otak, dan jaringan lain. Untuk mengetahui fungsi ginjal dapat dilihat dari kadar ureum dan kreatinin dalam darah. Tingginya ureum dan kreatinin pada kelompok kontrol negatif (A) mungkin disebabkan karena pemberian pakan dengan kadar protein yang tinggi. Protein yang dimakan akan memengaruhi distribusi asam amino di dalam darah sehingga memengaruhi kadar ureum plasma (Guyton dan Hall, 2007).

Tabel 1. Rataan kadar ureum tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan etilen glikol dan amonium klorida

Kelompok	Sebelum (mg/dl)	Sesudah (mg/dl)
Kontrol normal (A)	25,163 ± 0,934	26,587 ± 0,660 ^b
Kontrol Negatif (B)	26,528 ± 3,847	28,608 ± 2,475 ^b
Ekstrak daun alpukat 100 mg/kgbb (C)	26,373 ± 2,385	33,643 ± 4,514 ^b
Ekstrak daun alpukat 300 mg/kgbb (D)	27,700 ± 1,436	44,108 ± 7,799 ^a

Keterangan : Huruf superkrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($p>0.05$)

Kelompok etil asetat 300mg/kgbb memperlihatkan perubahan kadar ureum yang tinggi sesudah dan sebelum perlakuan dan menyebabkan keracunan pada tikus, dan diperlihatkan oleh nilai ureum yang jauh lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Banyak faktor yang menyebabkan tingginya kadar ureum pada kelompok ini di antaranya yaitu pemberian induksi, dan pengaruh pelarut yang digunakan untuk fraksinasi.

Kreatinin merupakan metabolit kreatin yang diekskresikan seluruhnya kedalam urin melalui filtrasi glomerulus. Peningkatan kadar kreatinin dalam darah dan jumlah kreatinin dalam urin dapat digunakan untuk memperkirakan laju filtrasi glomerulus (Kramer *et al.*, 2004). Rataan kadar kreatinin serum pada tiap-tiap kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 2.

Rataan kadar kreatinin pada kelompok A 1,066mg/dl dan meningkat setelah perlakuan

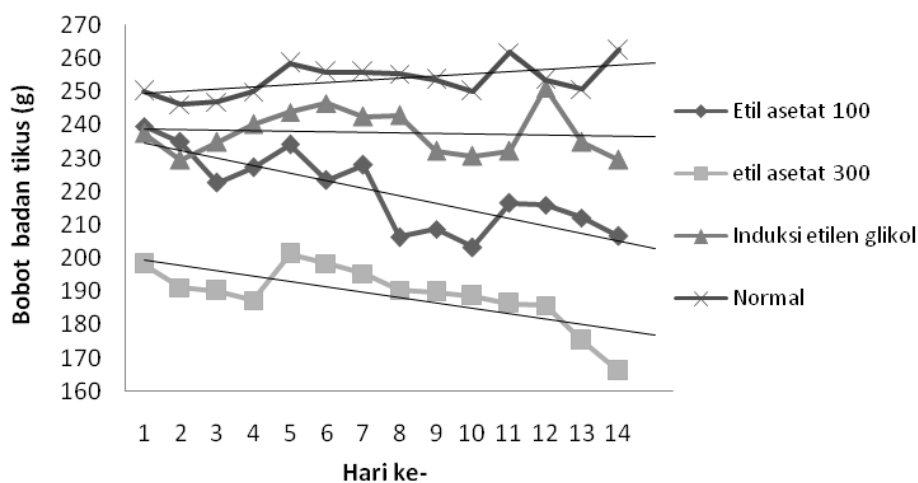
menjadi 1,364mg/dl. Pada kelompok B sebelum perlakuan 0,930mg/dl dan meningkat menjadi 1,080 mg/dl setelah perlakuan. Begitu juga untuk kelompok C dan D mengalami kenaikan setelah perlakuan. Untuk kelompok C 1,187mg/dl. dan meningkat menjadi 1,233mg/dl., kelompok D dari 1,260mg/dl. menjadi 1.620 mg/dl. Kadar kreatinin menunjukkan perbedaan yang tidak nyata dari tiap-tiap kelompok perlakuan.

Menurut Malole dan Pramono (1989), kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,2-0,8 mg/dl. Rataan kadar kreatinin pada setiap kelompok sesudah dan sebelum perlakuan lebih besar dari normal. Faktor-faktor yang dapat memengaruhi kadar kreatinin adalah jenis kelamin, kondisi kelaparan, dan ukuran jaringan otot. Penggunaan tikus yang memiliki umur beragam juga memengaruhi kadar kreatinin plasma. Hal tersebut berkaitan dengan semakin

Tabel 2. Rataan kadar kreatinin tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan etilen glikol dan amonium klorida

Kelompok	Sebelum (mg/dl)	Sesudah (mg/dl)
Kontrol normal (A)	1,066 ± 0,281	1,364 ± 1,052 ^a
Kontrol negatif (B)	0,930 ± 0,394	1,080 ± 0,294 ^a
Ekstrak daun alpukat 100mg/kgbb (C)	1,187 ± 0,100	1,233 ± 0,414 ^a
Ekstrak daun alpukat 300 mg/kgbb (D)	1,260 ± 0,631	1,620 ± 0,383 ^a

Keterangan: Huruf superkrip yang sama pada kolom yang sama menunjukan hasil yang tidak berbeda nyata (p>0.05)



Gambar 1. Perubahan bobot badan (g) tikus selama perlakuan etil asetat 100mg/kgbb, 300 mg/kg, induksi etilen glikol, dan normal.

bertambahnya umur maka jumlah glomerulus yang rusak secara normal juga bertambah. Pada manusia yang berusia 40 tahun, nefron mengalami kerusakan 10% setiap 10 tahun (Guyton dan Hall, 2007).

Pada kelompok B, C dan D mengalami penurunan bobot badan yang ditunjukkan dengan kemiringan (gradien/G) bernilai negatif (Gambar 1). Kelompok A mengalami peningkatan bobot badan dari awal hingga akhir perlakuan dengan nilai gradien positif. Apabila nilai gradiennya negatif menunjukkan semakin tinggi penurunan bobot badan begitu juga, bila nilai gradiennya positif, bobot badan hewan coba mengalami peningkatan.

Kelompok C dan D (Gambar 1) terlihat penurunan bobot badan akibat kondisi asidosis metabolik. Hal tersebut menyebabkan manifestasi kimia urin karena penurunan pH urin, peningkatan ekskresi asam fosfat, dan peningkatan ekskresi amonium (Green *et al.*, 2005). Tikus pada kelompok tersebut terlihat kurus dan tidak mau makan. Penurunan bobot badan tikus terus berlanjut hingga hari terakhir perlakuan.

SIMPULAN

Pemberian fraksi etil asetat daun alpukat dosis 100mg/kgbb dan 300mg/kgbb tidak memengaruhi terhadap penurunan kadar serum darah ureum dan kreatinin plasma. Fraksi etil asetat daun alpukat 300mg/kgbb meningkatkan kadar ureum yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan lainnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2008/2009. Untuk itu kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Laboratorium Farmasi Dept. Klinik, Reproduksi dan Patologi FKH-IPB dan Laboratorium Fisiologi Dept. Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi FKH-IPB.

DAFTAR PUSTAKA

- Brent J. 2009. Fomepizole for ethylene glycol and methanol poisoning. *The New England Journal of Medicine* 360:1533-4406.
- Divakar K, Pawar AT, Chandrasekhar SB, Dighe SB, Divakar G. 2010. Protective effect of the hydro-alcoholic extract of *Rubia cordifolia* roots against ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *Food and Chemical Toxicology* 48 : 1013-1018.
- Formica JV, Regelson W. 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Di dalam : Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. *Inflammation & Allergy - Drug Targets* 8: 229-235.
- Guyton AC, Hall JE. 2007. *Fisiologi Kedokteran*. Penerjemah; Luqman Yanuar R dkk, Irawati dkk, editor. Jakarta : EGC. Terjemahan dari : *Textbook of Medical Physiology*.
- Green ML, Hatch M, Freed RW. 2005. Ethylene glycol induces hyperoxaluria without metabolic acidosis in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 289: 536-543.
- Kaviarasan K, Kalaiarasi P, Pugalendi V. 2008. Antioxidant efficacy of flavonoid-rich fraction from *Spermacoce hispida* in hyperlipidemic rats. *J. Applied Biomedicine* 6: 165-176.
- Kramer JA, Pettiet SD, Amin RP, Bertram TA, Car B, Cunningham M, Curtiss SW, Davis JW, Kind C, Lawton M, Naciff JM, Oreffo V, Roman RJ, Sistare FD, Steven J, Thompson K, Vickers A, Wild S, Afsharif A. 2004. Overview of the application of transcription profiling using selected nephrotoxicants for toxicology assessment. *Environmental Health Perspectives* 112 : 460-464.
- Leth PM, Gregersen M. 2005. Ethylene glycol poisoning. *Forensic Science International* 155 : 179-184.
- Madyastuti R. 2010. Pengaruh Infusum Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) dalam Menghambat Kristal Urin yang Diinduksikan Etilen Glikol Pada Tikus Putih Jantan [Tesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Meimaridou E, Lobos E, Hothersall JS. 2006. Renal oxidative vulnerability due to changes in mitochondrial-glutathione and energy homeostasis in a rat model of calcium oxalate urolithiasis. *Am J Physiol Renal Physiol* 29: 731-740.

- Malole MBM, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan di Laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB.
- Nikolic J, Cvetkovic T, Sokolovic D. 2003. Role of quercetin on hepatic urea. Production in acute renal failure. *Renal Failure* 25: 149-155.
- Sunanto H. 2009. *100 Resep Sembuhkan Hipertensi, Asam Urat, dan Obesitas*. Jakarta: PT Alex Media Komputindo.
- Sunarjono H. 2008. *Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Thomas ANS. 1989. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta : Kanisius.
- Tsujihata M. 2008. Mechanism of calcium oxalate renal stone formation and renal tubular cell injury. *International Journal of Urology* 15 : 115-120.
- Waji RA, Sugrani A. 2009. *Flavonoid (quersetin)*[makalah kimia organik bahan alam]. Makassar : Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin.
- Wientarsih I. 2008. *Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Gaernt) Terhadap Bati Ginjal Buatan dan Diuretik Pada Tikus Putih* (Laporan Penelitian Hibah Bersaing), Bogor : Institut Pertanian Bogor.