

Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat Terhadap Zat Nefrotoksik Ginjal Tikus

(ACTIVITIES STUDY OF ETHANOL EXTRACTS OF AVOCADO LEAVES (*PERSEA AMERICANA* MILL) TO NEPHROTOXIC COMPOUND OF RAT'S KIDNEY)

Ietje Wientarsih¹, Eva Harlina²,
Rini Madyastuti Purwono¹, Ikrar Trisnaning Hardi Utami³

¹Bagian Farmasi, ²Bagian Patologi, ³S1, Departemen Klinik, Reproduksi, dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor
Jln Agathis, Kamus IPB Dramaga, Bogor 16680
Corresponding E-mail: wien_tje@yahoo.com, tlp Telepon 0251-8623940

ABSTRAK

Berdasarkan data WHO sekitar 80% penduduk dunia telah menggunakan ekstrak tanaman sebagai obat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari aktivitas ekstrak etanol daun alpukat terhadap ginjal tikus yang diinduksi etilen glikol melalui gambaran histopatologinya. Penelitian ini merupakan kelanjutan dari dengan rancangan percobaan sebagai berikut: 20 ekor tikus jantan dibagi menjadi empat kelompok yaitu kelompok control negatif (KN) yang hanya diberi aquades, kelompok kontrol positif (KP) yang diberi inducer adlibitum, kelompok perlakuan I (E100) yang diberi inducer dan ekstrak etanol daun alpukat 100 mg/kg bb, dan kelompok perlakuan dua yang diberi inducer dan ekstrak etanol daun alpukat dosis 300 mg/kg bb. Perlakuan diberikan selama 10 hari, pada hari ke-11 tikus dikorbankan nyawanya/dieuthanasi, dan organ ginjal diambil untuk dibuat sediaan histopatologi dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Perubahan histopatologi ginjal menunjukkan adanya edema glomerulus, endapan protein, *hyaline droplet* dan tubulus nekrotik. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun alpukat tidak dapat mengurangi kejadian edema glomerulus, endapan protein dan hyalin droplet di tubulus, namun dapat menghambat terbentuknya tubulus nekrotik secara nyata. Ekstrak etanol daun alpukat mengandung flavonoid yang bekerja sebagai diuretikum dan antioksidan sehingga dapat menghambat terbentuknya tubulus nekrotik.

Kata kata kunci: daun alpukat, etilen glikol, ginjal

ABSTRACT

Based on WHO's data, about 80% peoples in the word use plant's extract as herbal medicine. Avocado leaves has used as herbal medicine which is works as diuretikum, reduce stone in renal, and cure sprue. The purpose of this research is to study activities of ethanol extract of avocado leaves to ethylene glycol induction on rat's kidney by histopathologically. This experiment was continuing Adha's research (2009) with research design as follows: twenty male rats were divided into 4 groups, negative control group (KN), positive control group (KP), treated group I by ethanol extract of avocado leaves 100 mg/kg BW (E100), and treated group 2 by 300 mg/kg BW (E300). Sampling kidney were fixed in BNF 10% for histopathological slide and stained by Hematoxylin-Eosin. The kidney histopathological changes were edema of glomerulus, and protein deposit in the lumen, hyalin droplet and necrotic tubules. The results showed that ethanol extract of avocado leaves can't significantly to reduce glomerulus edema with percentage cases 31.9% and 33.5% for E100 and E300 and tend not to reduce the occurrence of protein deposits in the lumen of the tubule. Ethanol extract of avocado leaves tend to reduce the incidence of tubular necrosis and it was significantly different from the KP group ($p < 0.05$). It is caused by flavonoid in etanol extract of avocado leaves works as diuretikum and antioxidant.

Keywords: avocado leaf, nephrotoxic compound, rat kidney, histopathology.

PENDAHULUAN

Kecenderungan masyarakat dunia untuk kembali ke alam membawa perubahan dari pola konsumsi obat terhadap obat-obatan yang terbuat dari bahan alami. Berdasarkan data WHO tahun 2007, sekitar 80% penduduk dunia untuk perawatan kesehatannya memanfaatkan obat tradisional yang berasal dari ekstrak tanaman (Zaenal 2008).

Masyarakat Indonesia sudah sejak ratusan tahun yang lalu memiliki tradisi memanfaatkan tanaman dari lingkungan sekitarnya sebagai obat tradisional yang dikenal dengan nama jamu. Fenomena ini terus meningkat sejak krisis ekonomi tahun 1997 yang menyebabkan harga obat sintetik melonjak tinggi karena sebagian besar bahan baku obat sintetik tersebut merupakan komoditi impor. Tingginya minat masyarakat Indonesia akan obat yang berasal dari tanaman (obat herbal) mengakibatkan banyak perusahaan industri farmasi nasional yang menawarkan produk obat herbal dalam bentuk ekstrak tanaman obat yang diolah dan dikemas secara modern di pasaran (Dorly 2005).

Daun alpukat (*Persea americana*) secara historis telah dijadikan sebagai obat herbal yang dimanfaatkan sebagai pelancar pengeluaran air seni, penghancur batu di saluran kemih, dan sebagai obat sariawan. Bagian yang digunakan untuk ramuan tradisional adalah daun, karena mengandung gula, d-parseit, flavonoid quersetin, dan senyawa sterin (Maryani dan Suharmiati, 2003).

Penyebab batu ginjal beraneka ragam, salah satunya adalah karena masuknya zat nefrotoksik ke dalam tubuh, yang di antaranya adalah senyawa etilen glikol. Laraoubi *et al.*, (2007) menyatakan bahwa pembentukan batu ginjal yang diinduksi etilen glikol menyebabkan terbentuknya kristal oksalat. Keadaan ini menyebabkan ginjal meningkatkan retensi dan ekskresi oksalat yang merangsang lipid mengalami peroksidasi dan menyebabkan kerusakan ginjal karena adanya reaksi dengan asam lemak tak jenuh pada membran sel.

Penelitian ini ingin membuktikan manfaat daun alpukat yang merupakan salah satu obat herbal yang diduga bersifat sebagai diuretikum, sehingga penggunaan daun alpukat secara historis dapat digunakan sebagai obat batu ginjal dapat diperkuat dengan adanya fakta ilmiah. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari gambaran histopatologi ginjal yang diinduksi zat nefrotoksik etilen glikol dan diberi

ekstrak etanol daun alpukat. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang daya kerja ekstrak etanol daun alpukat terhadap zat nefrotoksik etilen glikol pada ginjal tikus.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi dan Laboratorium Patologi, Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, dimulai pada bulan Juli - Desember 2009.

Rancangan percobaan

Penelitian menggunakan hewan model tikus sebanyak 20 ekor tikus jantan dengan bobot badan 200-300 gram, dan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu: kelompok kontrol negatif (KN) diberi air minum *ad libitum*; kelompok kontrol positif (KP) diberi *inducer ad libitum*; kelompok perlakuan 1 (E100) diberi *inducer* dan dicekok ekstrak etanol daun alpukat dengan dosis 100 mL/kg bb; kelompok perlakuan 2 (E300) diberi *inducer* dan dicekok ekstrak etanol daun alpukat dengan dosis 300 mL/kg bb.

Inducer yang digunakan adalah etilen glikol 75% dan amonium klorida 25%. Pemberian *inducer* dan ekstrak etanol daun alpukat dilakukan mulai hari ke-0 selama 10 hari. Setelah perlakuan, tikus percobaan dikorbankan jiwanya dan dilakukan sampling ginjal tikus untuk kemudian dibuat sediaan histopatologi dan diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Evaluasi Histopatologi

Pengamatan histopatologi yang dilakukan pada ginjal adalah dengan menghitung persentase kerusakan glomerulus dan tubulus. Parameter yang diamati didasarkan pada lesi yang ditemui yaitu pada glomerulus adalah adanya edema, sedangkan parameter kerusakan tubulus meliputi endapan protein, *hyalin droplet*, dan tubulus nekrotik.

Persentase kerusakan glomerulus diperoleh dengan cara menghitung jumlah glomerulus yang rusak dibagi dengan seluruh jumlah glomerulus yang ditemui pada sediaan dikali 100%, sedangkan persentase kerusakan tubulus diperoleh dengan cara menghitung jumlah tubulus proksimal yang rusak dibagi dengan jumlah keseluruhan tubulus proksimal dikali

100%. Tubulus proksimal adalah tubulus yang terletak di sekeliling glomerulus.

Analisis Data

Persentase kerusakan glomerulus dan tubulus proksimal diuji secara statistika menggunakan uji sidik ragam, jika ada perbedaan yang jelas, dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan untuk mengetahui pengaruh perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan histopatologi ginjal ditemukan perubahan pada parenkim berupa edema glomerulus yang ditandai dengan adanya endapan protein pada mesangium dan ruang Bowman serta perubahan pada tubulus berupa endapan protein pada lumen, adanya droplet hyalin dan nekrosis epitel. Hasil evaluasi histopatologi glomerulus dan tubulus proksimal disajikan pada Tabel 1.

Data statistik menunjukkan lesi edema glomerulus (Gambar 1) pada Tabel 1 memperlihatkan seluruh kelompok perlakuan menunjukan hasil yang tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dibandingkan dengan kelompok KN, namun pemberian ekstrak etanol daun alpukat cenderung menurunkan persentase edema glomerulus pada kelompok E100 dan E300.

Kejadian edema glomerulus pada kelompok KN dapat disebabkan oleh faktor lingkungan dan termasuk kedalam tipe nonradang. Menurut Cheville (2006), mekanisme terjadinya edema disebabkan oleh dua hal yaitu tipe radang dan nonradang. Tipe radang terjadi karena

peningkatan permeabilitas endotel, sedangkan nonradang terjadi karena peningkatan tekanan hidrostatik, penurunan tekanan osmotik plasma, dan obstruksi limfatik.

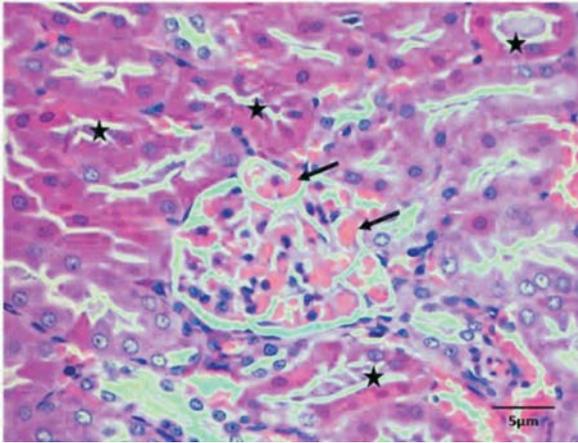
Kejadian edema selain disebabkan oleh faktor lingkungan juga dapat disebabkan oleh induksi etilen glikol dan amonium klorida sebagai nefrotoksikan. Sebanyak 50% etilen glikol yang dikonsumsi akan dimetabolisme dan diekskresikan oleh ginjal, namun sisanya dimetabolisme di hati dan disalurkan menuju ginjal melalui sistem sirkulasi (Merk *et al.*, 2005). Metabolisme etilen glikol di hati meliputi pembentukan glikoaldehid dan asam glikolik oleh enzim alkohol dehidrogenase. Selanjutnya membentuk asam glikosiklik dan pada akhirnya membentuk asam oksalat (Cheville 2006). Metabolisme etilen glikol yang berlebihan dapat menyebabkan asidosis metabolik kronis dan nephrosis. Nephrosis merupakan perubahan pada ginjal yang bersifat degenerasi yang ditimbulkan oleh gangguan pertukaran zat. Menurut McGavin dan Zachary (2007), nephrosis akan mengakibatkan kapiler glomerulus tidak berfungsi baik sehingga dapat terjadi edema glomerulus.

Fan *et al.*, (1997) mengemukakan bahwa amonium klorida dapat menginduksi metabolik asidosis sehingga ketika direaksikan dengan etilen glikol akan mempercepat proses terbentuknya kristal oksalat. Oksalat tidak dimetabolisme lebih lanjut dan bersifat sitotoksik terhadap epitel tubuler ginjal serta memperburuk asidosis metabolik. Oksalat yang bergabung dengan kalsium akan membentuk kompleks terlarut yang diekskresikan melalui filtrasi glomerulus. Menurut Cuningham (2002),

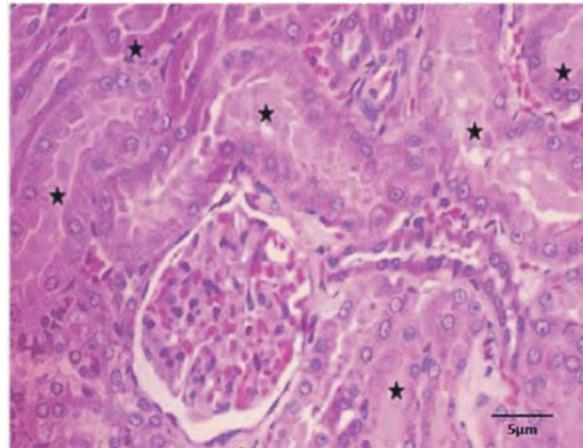
Tabel 1 Persentase lesi glomerulus dan tubulus pada pemberian ekstrak etanol daun alpukat dan zat nefrotoksik selama 10 hari.

Kelompok	Glomerulus		Tubulus			
	Normal	Edema	Normal	Endapan protein	Hyalin droplet	Nekrotik
KN	68.8+11.3 ^a	29.6+10.4 ^a	74.7+10.2 ^b	5.1+2.4 ^a	2.9+2.7 ^a	14+0.8 ^a
KP	65.9+8.2 ^a	34.1+8.2 ^a	5.7+2.7 ^a	21.2+12.6 ^{ab}	8.6+7.6 ^{ab}	64.2+21.7 ^c
E100	68.1+4.9 ^a	31.9+4.9 ^a	9.8+2.1 ^b	34.7+7.6 ^b	18.1+10.0 ^{bc}	37.5+5.8 ^b
E300	66.5+10.2 ^a	33.5+10.2 ^a	6.3+2.7 ^b	28.3+9.1 ^b	25.8+6.1 ^c	40.+3.7 ^b

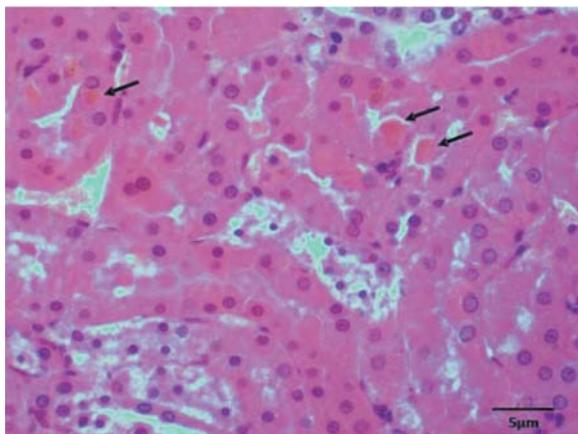
Keterangan : KN=kontrol negative; KN=kontrol positive; E100 diberi *inducer* dan dicekok ekstrak etanol daun alpukat dengan dosis 100 mL/kg bb; E300 = diberi *inducer* dan dicekok ekstrak etanol daun alpukat dengan dosis 300 mL/kg bb. Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukan hasil yang berbeda nyata ($p<0,05$).



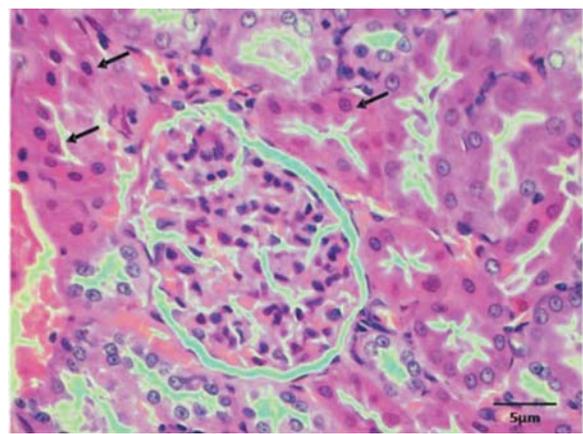
Gambar 1. Edema glomerulus yang ditandai dengan akumulasi protein di ruang Bowman (panah) dan tubulus nekrotik dengan endapan protein (bintang) pada kelompok E300. Pewarnaan HE, Bar = 5 μm .



Gambar 2. Endapan protein (bintang) di lumen tubulus pada kelompok KP. Pewarnaan HE, Bar = 5 μm .



Gambar 3. *Hyalin droplet* (panah) di epitel tubuli ginjal pada kelompok KP. Pewarnaan HE, Bar = 5 μm .



Gambar 4. Tubulus nekrotik dengan inti piknotis (panah) dan sitoplasma lebih eosinofilik pada kelompok E100. Pewarnaan HE, Bar = 5 μm .

akumulasi kristal dapat menstimulasi pelepasan molekul prostaglandin, sitokin, dan protein kemoatraktif, sehingga terjadi akumulasi masa atau endapan protein pada mesangium hingga ke ruang Bowman.

Penurunan persentase edema glomerulus pada kelompok yang diberi ekstrak etanol daun alpukat diduga terjadi karena kandungan bahan yang bersifat diuretik sehingga meningkatkan laju filtrasi glomerulus. Menurut Guyton dan Hall (1997), adanya peningkatan laju filtrasi glomerulus menyebabkan zat nefrotoksik yang masuk ke ginjal akan dikeluarkan secara cepat

akibat aktivitas urinasi yang meningkat sehingga meminimalisir terjadinya akumulasi kristal. Wientarsih (2008) melaporkan melakukan penapisan fitokimia terhadap ekstrak etanol daun alpukat dan positif mengandung flavonoid. Menurut Adha (2009), ekstrak etanol daun alpukat mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas diuretikum dan menurut Jouad *et al.*, (2001), flavonoid dapat meningkatkan urinasi, pengeluaran elektrolit, pada tikus normotensi dengan meningkatkan kecepatan filtrasi glomerulus (KFG).

Tubulus proksimal memiliki mekanisme transport aktif untuk mereabsorpsi protein dengan cara pinositosis (Guyton dan Hall, 1997). Jika kapasitas tubulus untuk menyerap protein terlampaui karena banyaknya protein yang ada, hal ini dapat mengakibatkan terbentuknya endapan protein di lumen. Menurut Cheville (2006), Adanya protein di lumen disebabkan oleh lolosnya protein plasma dari kapiler glomerulus yang kemudian mendiami lumen tubulus. Endapan protein tersebut difagosit oleh lisosom. Protein yang difagosit oleh lisosom mengalami akumulasi di sitoplasma yang disebut *hyaline droplet* (Gambar 2).

Data endapan protein pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok yang diinduksi etilen glikol dan diberi ekstrak etanol daun alpukat (E100 dan E300) memiliki endapan protein yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok KN, dan kelompok yang hanya diinduksi etilen glikol (KP) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan kelompok yang diberi ekstrak etanol daun alpukat (E100 dan E300) maupun kelompok KN. Hal ini mengindikasikan bahwa induksi etilen glikol menyebabkan edema glomerulus akibat rusaknya membran glomerulus, sehingga meloloskan protein ke tubulus proksimal.

Data *hyaline droplet* (Gambar 3) pada Tabel 1, menunjukkan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun alpukat (E100 dan E300) berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok KN, sedangkan kelompok KP tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap kelompok KN. Tingginya persentase *hyaline droplet* pada kelompok perlakuan disebabkan banyaknya akumulasi protein di lumen tubulus.

Parameter terakhir dari kerusakan tubulus yaitu nekrotik (Gambar 4), dan persentase tubulus nekrotik seluruh kelompok perlakuan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibanding kelompok KN. Persentase tubulus nekrotik kelompok yang diinduksi etilen glikol (KP) lebih tinggi dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi dan diberi ekstrak etanol daun alpukat (E100 dan E300). Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak etanol daun alpukat dapat menghambat terjadinya nekrotik pada tubulus.

Penurunan kejadian tubulus nekrotik pada kelompok E100 dan E300 dapat disebabkan karena kandungan flavonoid pada daun alpukat. Menurut Hard *et al.*, (2003) flavonoid memiliki fungsi sebagai antioksidan dan melindungi

struktur sel epitel tubuh termasuk ginjal. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan dan melawan bahan yang toksik, serta menghambat terjadinya oksidasi sel sehingga kerusakan sel dapat dikurangi (Simanjuntak *et al.*, 2004). Menurut Ozaki *et al.*, (1999), antioksidan dapat menghambat proses inflamasi pada daerah glomerulus dengan menghambat aktivitas enzim-enzim inflamasi dan pelepasan sitokin (Massy *et al.*, 1999).

SIMPULAN

Induksi etilen glikol dan amonium klorida menyebabkan lesi berupa edema glomerulus serta endapan protein, *hyaline droplet* dan tubulus nekrotik. Pemberian ekstrak etanol daun alpukat tidak dapat menurunkan edema glomerulus namun membuat terjadinya penurunan persentase tubulus nekrosis.

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

- Adha C. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) terhadap Aktivitas Diuretik Tikus Putih Jantan, *Sprague dawley*. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.
- Cheville NF. 2006. *Introduction to Veterinary Pathology. Ed ke-3*. Iowa. Iowa State University Press.
- Cunningham J. 2002. *Textbook of Veterinary Physiology. Third Edition*. USA: WB Saunders Company.

- Dorly. 2005. Potensi Tumbuhan Obat Indonesia Dalam Pengembangan Industri Agromedisin. [Tesis]. Bogor. Institut Pertanian Bogor
- Guyton, Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9*. Jakarta: EGC.
- Hard GC. 2008. Some Aids to Histological Recognition of Hyaline Droplet Nephropathy in Ninety-Day Toxicity Studies. *Journal of Toxicology Pathology*. 36: 1014-1017. <http://tpx.sagepub.com> [19 Maret 2010].
- Ji Fan, Glass M, Chandhoke P. 1997. Impact of Ammonium Chloride Administration on A Rat Ethylen Glycol Urolithiasis Model. *Scranning Microscopy* 13 (2-3) : 299-306.
- Jouad H, Lacaille-Dubois MA, Lyoussi B, Edduks M. 2001. Effect of The Flavonoids Extract from *Sprengularia purpurea* Pers. on Arterial Blood Pressure and Renal Function in Normal and Hypertensive Rats [Abstract]. *Journal of Ethnopharmacology* 76 : 159-163. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/03788741> [4Agustus 2009].
- Laroubi A, Touhami M, Farouk L, Zrara I, Abaoufatima R, Benharrel A, Chait A. 2007. Prophylaxis Effect of *Trigonella foenum graecum* L. Seeds on Renal Stone Formation in Rats. *Phytotherapy Research* 21 : 921-925.
- Maryani H, Suharmiati. 2003. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Penyakit pada Usia Lanjut*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Massy ZA, Guijarro C, O'Donnell MP, Kim Y, Kashtan D, Crozier A. 1999. The central role of nuclear factor-kB in mesangial cell activation. *Kidney Intl* (Suppl. 71), S76-S79.
- McGavin MD, Zachary JF. 2007. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Fourth Edition. An affiliate of Elsevier Inc.
- Merk E, Cynthia M, Scott L. 2005. *The Merk Veterinary Manual*. USA: Merk & Company, Incorporated.
- Ozaki M, Yamada Y, Matoba K, Otani H, Mune M, Yukawa S, Sakamoto W. 1999. Phospholipase A2 activity in ox-LDL-stimulated mesangial cells and modulation by alpha tocopherol. *Kidney Intl* 56 (Suppl. 71) : S171-S173.
- Remuzzi G, Bertani T. 1998. Pathophysiology of Progressive Nephropathies. *The New England Journal of Medicine*. 33 : 20.
- Simanjuntak P, Parwati T, Lenny LE, Tamat S, Murwani R. 2004. Isolasi dan identifikasi senyawa antioksidan dari ekstrak benalu teh, *Scurrula oortiana* (Korth) danser (Lorantaceae). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2(1) : 6-9.
- Wientarsih I. 2008. *Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Gaernt) Terhadap Batu Ginjal Buatan dan Diuretik pada Tikus Putih* (Laporan Penelitian Hibah Bersaing), Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Zaenal N. 2008. Optimalisasi Produksi Obat Tradisional pada Taman SYIFA di Kota Bogor, Jawa Barat. Bogor. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.