JURNAL FARMASI SAINS DAN KOMUNITAS, Mei 2014, hlm. 38-42 Vol. 11 No. 1
ISSN : 1693-5683

# PENGARUH WAKTU PROTEKSI INFUSA BIJI *Persea americana* Mill. TERHADAP HEPAR DAN GINJAL TIKUS TERINDUKSI KARBONTETRAKLORIDA

LYDIA SETIAWAN, INNEKE DEVI PERMATASARI, PHEBE HENDRA

**Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta**
Email korespondensi: *phebe_hendra@usd.ac.id*

***Abstract:*** *The aim of this research is to investigate the protective activity of the infusion of seed of Persea americana Mill. (IBPA) against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. Healthy rats were weighed and randomly divided into 6 groups of 5 animals in each. Group 1 were treated with olive oil (2ml/kg, i.p) as negative control. Group 2 received carbon tetrachloride (2 ml/kg, i.p.). Group 3 received IBPA 360.7 mg/kg once daily for 6 hours (control of dose IBPA). Group 4-6 received IBPA at doses 360.7 mg/kg orally once for 1, 4 and 6 hours respectively received treated carbon tetrachloride. Blood sample from all groups was obtained by sinus orbitalis for the estimation serum transaminase and creatinine. The pretreatment 1,4 and 6 hours of infusion of seed of Persea americana Mill. has a potent protective activity upon carbon tetrachloride-induced hepatic and nephron damage in rats.*

***Keywords****: Persea americana Mill., infusion, protective, carbon tetrachloride*

## 1. Pendahuluan

Hepar dan ginjal merupakan organ penting bagi manusia. Hepar berperan dalam proses metabolisme dan pengeluaran hasil produksi dari makanan. Sel hepar menjadi lebih rentan terhadap kerusakan dan penyakit karena mendapat suplai darah yang kaya makanan, tidak mengandung oksigen dan kadang-kadang toksik melalui *vena portae hepatis* (Wibowo dan Paryana, 2009). Pada keadaan terjadinya kerusakan jaringan hepar ditandai dengan terjadinya kenaikan aktivitas pada enzim transaminase (alanin transaminase/ALT dan aspartat transaminase/AST) (Speicher dan Smith, 1996)

Ginjal berperan menjaga keseimbangan cairan, elektrolit dan mengatur tekanan darah (Junqueira, Carneiro, dan Kelley, 2007). Sebagian besar produk sisa buangan yang dikeluarkan melalui urin diantaranya kreatinin. Peningkatan kadar kreatinin dalam darah merupakan indikasi rusaknya fungsi ginjal (Sacher dan McPherson, 2004).

Arukwe, *et al.* (2012) melaporkan daun, buah dan biji dari alpukat (*Persea americana* Mill. atau *P. americana*) mengadung beberapa komponen fitokimia, saponin, tannin, flavonoids, glikosida sianogenik, alkaloid, fenol, dan steroid. Kandungan saponin pada biji *P.americana* merupakan kandungan tertinggi dan diketahui juga bahwa kandungan fenol dan flavonoid cukup tinggi. Flavonoid merupakan antioksidan larut air yang sangat kuat sehingga flavonoid dapat mencegah kerusakan oksidatif sel, mempunyai aktifitas perlindungan dan anti kanker yang kuat melawan tahap-tahap dalam karsinogenesis (Salah, Miller, Pangauga, Bolwell, Rice, dan Evans, 1995). Fenol memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi, antikoagulan, antioksidan, serta peningkat sistem imun (Arukwe *et al.,* 2012). Malangngi, Meiske dan Jessy (2012) melaporkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak air biji alpukat biasa kering dibandingkan biji alpukat mentega kering,

biji alpukat biasa segar dan biji alpukat mentega segar.

Karbon tetraklorida (CCl4) merupakan salah satu senyawa model hepatotoksin dan nefrotoksin yang banyak digunakan. Karbon tetraklorida akan menghasilkan radikal bebas triklorometil dengan katalis enzim sitokrom P-450 yang dapat menimbulkan peroksidasi lipid. Hasil ini dapat menyebabkan kerusakan sel berupa perlemakan hepar (*steatosis*) dan kerusakan pada tubulus proksimal ginjal (Gregus and Klaaseen, 2001; Timbrell, 2008). Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilihat pengaruh waktu proteksi pemberian infusa biji *P. americana* (IBPA) terhadap hepar dan ginjal tikus jantan yang terinduksi karbon tetraklorida.

## 2. Metode

*2.1. Penyiapan infusa biji alpukat*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat yang diperoleh dari Padang, Sumatera Barat. Sebanyak 8,0 g serbuk kering ditimbang dan ditambahkan 16,0 mL pelarut akuades, selanjutnya ditambahkan lagi 100 mL, selanjutnya dipanaskan pada suhu $90^0$C selama 10 menit. Campuran disaring dengan menggunakan kain flanel, dan ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga 100 mL.

*2.2. Hewan coba*

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus jantan galur *Wistar* dengan berat badan antara 150-250 g, umur 2-3 bulan dan dalam keadaan sehat. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari *The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) Fac. of Medicine Gadjah Mada University.*

*2.3. Penginduksian karbon tetraklorida*

Karbon tetraklorida dilarutkan dalam *olive oil* dengan perbandingan 1:1. Pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kg secara intra peritoneal dilakukan setelah pemberian senyawa uji.

*2.4. Pengelompokan hewan uji*

Sebanyak 30 ekor tikus dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok perlakuan. Kelompok I (kontrol negatif) diberi *olive oil* dosis 2 ml/kg secara intraperitonial (i.p). Kelompok II (kontrol hepatotoksin) diberi larutan karbon tetraklorida 2 ml/kg secara i.p. (Janakat dan Al-Merie, 2002; Panjaitan dkk., 2007). Kelompok III (kontrol IBPA) diberi IBPA 360,7 mg/kgBB selama 6 jam. Kelompok IV-VI berturut-turut diberi IBPA secara oral 360,7 mg/kg selama 1,4 dan 6 jam berturut-turut kemudian diberikan karbon tetraklorida (2 ml/kg secara i.p.).

*2.5. Pemeriksaan ALT, AST dan kreatinin*

Pengambilan darah tikus dilakukan setelah 24 jam pemberian karbon tetraklorida melalui *sinus orbitalis* mata, lalu diukur aktivitas transaminase (ALT dan AST), selanjutnya pada jam-48 diambil darah untuk pengukuran kadar kreatinin. Data aktivitas ALT, AST dan kreatinin dianalisis dengan analisis pola searah (*One Way ANOVA*) dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji *Scheffe*.

## 3. Hasil dan Pembahansan

Aktivitas enzim transaminase dan kadar kreatinin pada perlakuan infusa biji *P. americana* (IBPA) serta kelompok kontrol negatif *olive oil*, kontrol IBPA dan kelompok hepatotoksin karbon tetraklorida tersaji pada Tabel 1. Pada kelompok hepatotoksin karbon tetraklorida terjadi peningkatan aktivitas ALT yang signifikan (183,2 ± 5,1 U/L) atau hampir 3 kali lipat dibanding kontrol negatif *olive oil* (47,6 ± 1,9 U/L). Aktivitas AST juga mengalami peningkatan 5 kali lipat dibanding kontrol *olive oil* (476,8 ± 14,2 U/L). Hal ini berarti telah terjadi kerusakan pada hepar tikus akibat pemberian karbon tetraklorida 2 ml/kg. Adapun pada pemberian karbon tetraklorida 1 ml/kgBB menunjukkan adanya kerusakan hari berupa perlemakan hati. (Panjaitan, Handharyani, Chairul, Masriani, Zakiah, Manalu, 2007; Yamamoto, Kikkawa, Yamada, Horri, 2006). Panjaitan, Handharyani, Chairul, Masriani, Zakiah, Manalu (2007) melaporkan pada pemberian karbon tetraklorida 1 ml/kgBB telah mengakibatnya terjadinya perlemakan hati. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Yamamoto, Kikkawa, Yamada, Horri (2006)

pada pemberian karbon tetraklorida 1 ml/kgBB memberikan gambaran histologis berupa perubahan inflamasi serta penumpukan lemak. Kenaikan kadar kreatinin akibat pemberian karbon tetraklorida (1,00 ± 0,06 mg/dL) memberikan perbedaan bermakna dibandingkan kontrol *olive oil* (0,52 ± 0,02 mg/dL). Bashandy dan AlWasel (2011) melaporkan pemberian karbon tetraklorida akut 1 ml/kgBB menimbulkan efek toksik pada ginjal berupa peningkatn kadar kreatinin tikus.

Kelompok perlakuan infusa biji *P. americana* 360 mg/kgBB dengan tiga variasi waktu pemberian memberikan penurunan aktivitas ALT yang bermakna terhadap kontrol hepatotoksin. Hal ini berarti pemberian infusa biji *P. americana* dengan waktu 1, 4 dan 6 jam mempunyai aktivitas penurunan ALT akibat induksi karbon tetraklorida. Diantara ketiga waktu pemberian tersebut, waktu pemberian 4 dan 6 jam yang memberikan penurunan aktivitas ALT hingga keadaan normal, terlihat dari aktivitas ALT yang berbeda tidak bermakna terhadap kontrol *olive oil*. Penurunan aktivitas AST pada ketiga variasi waktu dari perlakuan infusa biji *P. americana* menunjukkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kontrol karbon tetraklorida. Namun penurunan AST yang terjadi belum dapat mencapai keadaan normal, terlihar dari perbedaan yang bermakna pada ketiga variasi waktu dengan kontrol *olive oil*. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan pemberian 1, 4 dan 6 jam dari infusa biji *P. americana* telah mampu memberikan efek proteksi pada hepar tikus terinduksi karbon tetraklorida.

Pemberian infusa biji *P. americana* waktu 1 jam memberikan penurunan kadar kreatinin yang bermakna dibandingkan kontrol karbon tetraklorida. Pada pemberian waktu 4 dan 6 jam menunjukkan penurunan yang tidak bermakna dibandingkan kontrol

**Tabel 1. Pengaruh Waktu Pemberian Infusa Biji *P. americana* terhadap Aktivitas Transaminase Serum Dan Kadar Kreatinin Pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida (n=5)**

| Kelompok | Perlakuan | ALT (U/L) (rerata ± SE*) | AST (U/L) (rerata ± SE*) | Kreatinin (mg/dL) (rerata ± SE*) |
|---|---|---|---|---|
| I | Kontrol *olive oil* (2 ml/kg) | 47,6 ± 1,9 [b] | 60,2 ± 2,4 [b] | 0,58 ± 0,02 [b] |
| II | Kontrol karbon tetraklorida 2 ml/kg | 183,2 ± 5,1 [a] | 476,8 ± 14,2 [a] | 1,00 ± 0,06 [a] |
| III | Kontrol IBPA (360,7 mg/kg, 6 jam) | 43,0 ± 0,9 [b] | 96,6 ± 2,2 [b] | 0,58 ± 0,02 [b] |
| IV | IBPA (360,7 mg/kg, 1 jam) + karbon tetraklorida 2 ml/kg | 91,4 ± 0,9 [a,b] | 179,4 ± 5,2 [a,b] | 0,74 ± 0,04 [b] |
| V | IBPA (360,7 mg/kg, 4 jam) + karbon tetraklorida 2 ml/kg | 55,0 ± 2,1 [b] | 120,8 ± 13,5 [a,b] | 0,82 ± 0,02 [a] |
| VI | IBPA (360,7 mg/kg, 6 jam) + karbon tetraklorida 2 ml/kg | 50,8 ± 3,8 [b] | 135,0 ± 15,6 [a,b] | 0,88 ± 0,06 [a] |

*SE: Standar eror. IBPA: infusa biji *P. americana*
a: p<0,05 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok olive oil.
b: p<0,05 menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok karbon tetraklorida.

karbon tetraklorida, Hal ini berarti hanya pemberian 1 jam dari infusa biji *P. americana* yang mampu memberikan efek proteksi terhadap ginjal tikus yang terinduksi karbon tetraklorida.

Hasil metabolism dari karbon tetraklorida oleh enzim sitokrom P-450 di hepar berupa metabolit reaktif triklorometil dapat merangsang terjadinya peningkatan hidroperoksida dan malondialdehid. Lebih lanjut hal ini dapat menurunkan glutation di dalam jaringan hepar secara signifikan (Bashandy dan Al Wasel, 2011). Keadaan tersebut akan berlanjut dengan terjadi perubahan drastis di hepar seperti perubahan lemak, degenerasi melemak (Nirmala, *et al*., 2012) serta infiltrasi sel inflamasi, yang berdampak terjadinya steatosis dan pelepasan enzim transaminase (Zimmerman, 1999; Timbrel, 2008). Adapun mekanisme nefrotoksik pada bagian tubulus proksimal melalui pembentukan stres oksidatif dari hasil metabolisme karbon tetraklorida, radikal bebas triklorometil ($CCl_3$), triklorometilperoksi ($OOCCl_3$) dan kloroform ($CHCl_3$). Stress oksidatif dapat memicu pembentukan mediator vasoaktif yang dapat mempengaruhi fungsi ginjal secara langsung melalui inisiasi vasokonstriksi ginjal atau penurunan koefisien ultrafiltrasi kapiler glomerulus dan dengan demikian mengurangi laju filtrasi glomerulus (Garcia, *et al.*, 2000).

Nwaoguikpe dan Braide (2011) melaporkan kandungan fitokimia ekstrak air biji *P. americana* Mill. seperti tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, dan glikosida sianogen. Adanya kandungan di atas, terutama tanin dan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang bersifat antioksidan. Senyawa antioksidan tersebut memiliki mekanisme kerja mendonorkan satu elektronnya kepada radikal bebas derivat karbon tetraklorida sehingga proses oksidasi dari radikal bebas tersebut dapat dihambat. Dengan demikian kemungkinan mekanisme ketoksikan karbon tetraklorida di hepar dan ginjal dapat dihambat sehingga terjadi penurunan enzim transaminase dan kadar kreatinin tikus. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengetahui mekanisme hepatoprotektif dan nefroprotektif dari infusa *P. americana* serta senyawa yang bertanggung jawab.

## 4. Kesimpulan

Pemberian infusa biji *P. americana* 360,7 mg/kg dengan waktu 1, 4 dan 6 jam mampu memberikan efek proteksi pada hepar dan ginjal tikus terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kg.

**Daftar Pustaka**


Arukwe, U., Amadi, B.A., Duru, M.K.C., Agomuo, E.N., Adindu, E. A., Odika, P.C., et al, 2012, Chemical Composition of *Persea americana* leaf, fruit and seed, *IJJRAS*, 11, 346-348

Bashandy, S.A. dan AlWasel, S.H., 2011, Carbon tetrachloride-induced hepatotoxicit and nephrotoxicity in rats: protective role of vitamin C, *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 6(3), 283-292.

Garcia, E.C., Marin, J., Diez, L.D., Baena, A.B., Salaices, M., dan Rodriguez, M.A., 2000, Oxidative stress induced by tert-butylhydroperoxide causes vasoconstriction in the aorta from hypertensive and aged rats: role of cyclooxygenase-2 isoform, *J Pharmacol Exp Ther*, 293(1), 75-81.

Gregus and Klaaseen, C.D., 2001, Mechanism of Toxicity, in Klaaseen, C.D., *Cassarett and Doull's Toxicology: The Basic Science Poisons,* 6th Edition, Mc Graw-Hill, New York, pp 57-64.

Janakat, S., Al-Merie, H., 2002, Optimization of the dose and route of injection, and characterisation of the time course of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 48: 41–44.

Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelly, I., 2007, *Basic Histology,* 11th Ed., McGraw-Hill Co., Medical Publishing Division, NY, Chicago.

Malangngi, L., Meiske, S., and Jessy, J., 2012, Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill), *Jurnal MIPA UNSRAT*, 1 (1) 5-10.

Nirmala, M., Girija, K., Lakshman, K., Divya, T., 2012, Hepatoprotective activity of *Musa paradisiacal* on experimental animal models, *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 11-15

Nwaoguikpe, R. D. dan Braide, W., 2011, The effect of aqueous seed extract of *persea Americana* (avocado pear) on serum lipid and cholesterol levels in rabbits, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology Research*, 1(2),23-29.

Sacher, R.A. dan McPherson, R. A., 2004, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, EGC, Jakarta, hal. 291-293.

Salah, W., Miller, N.J.,Pangauga, T., Bolwell,G.P., Rice, E., and Evans, C., 1995, Polyphenolic flavonols as scavengers of aqueous phase radicals as chainbreaking antioxidant, *Arch. Biochem. Biorh*, pp. 2, 339-346.

Speicher, C.E. dan Smith, J.W., 1996, *Pemilihan Uji Laboratorium yang Efektif*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta

Panjaitan RGP, Handharyani E, Chairul, Masriani, Zakiah Z, Manalu W., 2007, Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida terhadap Fungsi Hepar dan Ginjal Tikus, *Makara Kesehatan*;11 (1): 11-16.

Timbrel, J. A. 2008, *Principles of Biochemical Toxicology*, 4th Edition, Informa Healthcare, New York, pp 308-311.

Wibowo, D.J., dan Paryana, W., 2009, *Anatomi Tubuh Manusia*, Graha Ilmu, Bandung, pp. 347-352.

Yamamoto, T., Kikkawa, R., Yamada, H., Horri, I., 2006, Investigation of proteomic biomarkers in invivo hepatotoxicity study of rat livers: toxicity differentiation in hepatotoxicants, *The Journal of Toxicological Sciences*, 31 (1), 49-60.

Zimmerman, H.J., 1999, *Hepatotoxicity* 2nd edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadephia, p. 195-210.