

ARTIKEL PENELITIAN

PERBANDINGAN EFEKTIVITAS DOSIS EKSTRAK BIJI ALPUKAT YANG DIPROSES DENGAN *MILLING* TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH PADA TIKUS

THE EFFECTIVITY OF MILLED AVOCADO SEED EXTRACT TOWARDS BLOOD SUGAR LEVEL IN RATS

Clarence Marks Alief¹, Jojor Lamsihar Manalu^{2,*}

¹ Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jalan Pluit Raya no. 2, Jakarta Utara 14440

² Departemen Fisiologi dan Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jalan Pluit Raya no. 2, Jakarta Utara 14440

* **Korespondensi:** jojor.lamsihar@atmajaya.ac.id

ABSTRACT

Background: Diabetes is a metabolic disease of which the pancreas is unable to produce insulin, a hormone that regulates blood sugar level or the body is unable to use insulin effectively. Diabetes causes several problems such as vision impairment, cardiovascular diseases, renal diseases and other illnesses. Diabetes is usually treated with anti-diabetic medication or with insulin. However, nowadays people are looking into alternative treatments which use natural ingredients. One such ingredient, among others is avocado seed (*Persea Americana Mill.*) extract. Avocado seeds is chosen for this research, as it has astringent and flavonoids which are proven to have anti-diabetic effect.

Method: This is an experimental study using Sprague-Dawley strain rats. The rats were separated into 4 groups, group I as a negative control, and group II, III, and IV as experimental groups. The rats in the test group were injected with alloxan to induce diabetes, then the rats were given avocado seed extract of different concentration every day for five days. The avocado seed extract is obtained by first milling the seeds, so they become soft powder, and then extracting the seed using maceration.

Results: Treatment with avocado seed extract caused a decrease in blood sugar level in group II, III, and IV. One Way Anova statistical test resulted in a value of $p=0,046$ therefore the decrease in blood sugar level was significant. However, Tukey HSD statistical test result showed that no test group is significantly different from one another.

Conclusion: Treatment with avocado seed extract (dose of 150mg/kg, 300mg/kg, and 450mg/kg) caused a decrease in blood sugar that is statistically significant, however no dose of the avocado seed extract is significantly more effective than the other.

Key Words: avocado seed, extract, diabetes, hyperglycemia, blood sugar level

ABSTRAK

Latar Belakang: Diabetes adalah penyakit metabolik yang disebabkan oleh pankreas yang tidak mampu memproduksi insulin (hormon yang mengatur kadar gula darah) atau tubuh yang tidak dapat menggunakan insulin secara efektif. Diabetes dapat menyebabkan gangguan penglihatan, penyakit kardiovaskuler, penyakit ginjal dan penyakit lainnya. Diabetes biasa diobati dengan obat kimia anti-diabetes atau dengan insulin. Namun saat ini, masyarakat sudah mulai mencari pengobatan alternatif yang menggunakan bahan alami. Salah satu bahan alami yang dapat dipakai sebagai pengobatan alternatif untuk diabetes adalah ekstrak biji alpukat (*Persea americana Mill.*). Biji alpukat dipilih karena memiliki zat aktif seperti astringen dan flavonoid yang sudah diteliti memiliki efek anti-diabetes.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan hewan uji tikus *Sprague-Dawley*. Kelompok tikus dibagi menjadi 4, yaitu kelompok I sebagai kelompok kontrol negatif, dan kelompok II, III dan IV. Kelompok tikus perlakuan diinjeksi dengan aloksan sehingga menginduksi kondisi diabetes, kemudian tikus diberikan ekstrak biji alpukat dengan konsentrasi berbeda setiap hari selama 5 hari. Ekstrak biji alpukat diperoleh dengan menggiling biji alpukat sehingga menjadi serbuk halus, lalu ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi.

Hasil: Setelah pemberian ekstrak biji alpukat, terdapat penurunan kadar gula darah pada kelompok II, III, dan IV. Dari uji statistik *one way anova* mendapatkan hasil $p=0,046$, maka penurunan kadar gula darah mendapatkan hasil bermakna. Namun berdasarkan hasil uji statistik *Tukey HSD*, kelompok uji tidak ada yang berbeda secara signifikan antara satu dan lainnya.

Kesimpulan: Pemberian ekstrak biji alpukat (dosis of 150mg/kg, 300mg/kg, and 450mg/kg) menyebabkan penurunan kadar gula darah yang bermakna secara statistik, namun tidak terdapat dosis ekstrak yang paling efektif dari antara ketiganya.

Kata Kunci: biji alpukat, ekstrak, diabetes, hiperglikemia, kadar gula darah

PENDAHULUAN

Glukosa adalah zat penting yang digunakan untuk proses respirasi sel dalam tubuh manusia. Namun bila glukosa dalam darah terlalu tinggi dapat menyebabkan berbagai penyakit. Salah satu penyebab glukosa dalam darah terlalu tinggi (hiperglikemia) adalah diabetes. Diabetes adalah penyakit metabolik yang disebabkan oleh pankreas yang tidak mampu memproduksi insulin (hormon yang mengatur kadar gula darah) atau tubuh yang tidak dapat menggunakan insulin secara efektif.¹

Pada tahun 2012 terdapat 1,5 juta orang meninggal karena komplikasi diabetes. Diabetes merupakan penyakit urutan ke delapan yang menyebabkan kematian terbanyak pada manusia.² Diabetes dapat menyebabkan gangguan penglihatan, penyakit kardiovaskuler, penyakit ginjal dan penyakit lainnya.³ Diabetes biasa diobati dengan obat-obat kimia anti-diabetes atau dengan insulin, serta implementasi gaya hidup sehat sehingga kadar gula darah dapat normal⁴. Namun saat ini, masyarakat sudah mulai mencari pengobatan alternatif yang menggunakan bahan alami. Salah satu bahan alami yang dapat dipakai sebagai pengobatan alternatif untuk diabetes adalah ekstrak biji alpukat (*Persea americana Mill.*).

Penelitian oleh Yunita Ebrilianti Oktaria pada tahun 2013 menyatakan bahwa ekstrak biji alpukat yang diujinya terhadap tikus menurunkan gula darah, yang paling terlihat pada hari ke-10 yaitu gula darah mendekati batas normal.⁵ Yunita menggunakan etanol untuk ekstraksi biji alpukat pada penelitiannya. Penelitian oleh Ezejiolor pada tahun 2013 membuktikan bahwa ekstrak biji alpukat yang dibuat dengan cara direbus mampu menurunkan kadar gula dalam darah pada tikus yang diabetes.⁶ Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa biji alpukat bersifat anti-diabetik dan juga protektif terhadap organ-organ tertentu. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa ada dampak dari biji alpukat terhadap gula darah, namun belum mempertimbangkan ukuran sebagai variabel yang dapat berdampak pada hasil dan juga efektivitas ekstrak pada dosis yang lebih kecil. Maka dari itu peneliti melakukan uji dengan dengan dosis yang lebih kecil dan skala biji alpukat yang lebih kecil dengan metode *milling* untuk membuat serbuk biji alpukat.

Milling adalah proses materi padat diolah sehingga menjadi lebih kecil untuk kegunaan tertentu. Dalam penelitian ini biji alpukat diproses dengan *milling* sebelum diekstraksi, sehingga memiliki ukuran partikel yang lebih kecil. Ukuran partikel yang lebih kecil menjadikan luas permukaan lebih besar, sehingga mampu meningkatkan kualitas ekstrak. Peneliti ingin menemukan ekstrak yang lebih efektif dan dosis optimal ekstrak biji alpukat dengan pemberian dosis variasi yang lebih kecil dan ekstrak yang diproses *milling* terlebih dahulu.

METODE

Desain penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental *in vivo* menggunakan model hewan. Kadar gula darah tikus diukur pada 3 waktu, yaitu sebelum diinduksi dengan aloksan, sesudah diinduksi dengan aloksan dan setelah perlakuan ekstrak biji alpukat selama 5 hari. Penelitian dilaksanakan di dua lokasi yaitu Laboratorium Biokimia-Kimia FKIK Unika Atma Jaya, Pluit, Jakarta Utara dan *Indonesian Medical Education and Research Institute* (IMERI) Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI).

Ekstrak biji alpukat dibuat dengan teknik ekstraksi maserasi pada biji alpukat yang sudah diproses dengan metode *milling*. Biji alpukat pertama diperoleh dari alpukat dengan memisahkan biji dengan daging dan kulit buah. Biji yang dipisahkan kemudian dikupas dan dipotong menjadi tipis dan kecil menggunakan pisau. Bagian biji alpukat yang kecil ini kemudian dikeringkan. Kemudian dilakukan *milling* dengan memproses biji alpukat penggiling selama 10 menit sehingga menjadi serbuk biji alpukat yang halus. Ekstraksi dengan metode maserasi kemudian dilakukan dengan merendam serbuk biji alpukat dengan etanol 96%. Pemilihan etanol dilakukan berdasarkan polaritas dan kelarutan sehingga memudahkan pemindahan senyawa kemudian disaring dan diproses dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak.⁷

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus *Rattus norvegicus* galur Sprague Dawley. Tikus yang digunakan adalah tikus Sprague Dawley jantan dengan berat 140-250 gram dengan umur 2-4 bulan dan mempunyai kondisi diabetes (kadar gula darah sewaktu lebih dari 200 mg/dL)

Peneliti menggunakan 3 ekor tikus dengan *drop out* sebanyak 2 tikus sehingga terdapat 5 tikus pada setiap kelompok. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok sehingga jumlah tikus total adalah 20. Pembagian kelompok tikus adalah kelompok I, yaitu tikus kontrol yang diabetes yang tidak diberi ekstrak biji alpukat, kelompok II adalah tikus diabetes yang diberi ekstrak biji alpukat 150mg/kgBB, kelompok III merupakan tikus diabetes yang diberi ekstrak biji alpukat 300mg/kgBB dan kelompok IV adalah tikus diabetes yang diberi ekstrak biji alpukat 450mg/kgBB. Untuk menentukan estimasi besar sampel, peneliti menentukan sendiri jumlah tikus yang hendak dipakai dengan mengacu pada *degree of freedom*. Setelah dihitung dengan formula $E=n-t$ dengan t adalah jumlah kelompok dan n adalah jumlah sampel. Didapatkan hasil 16 maka sampel dianggap mewakili karena $E=10-20$.

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari. Tikus kelompok II, III dan IV akan dipuasakan selama 16 jam dengan tujuan untuk memaksimalkan efek obat yang dapat bersaing dengan glukosa yang memiliki bentuk serupa secara molekuler⁸ kemudian, dilakukan induksi dengan aloksan dengan injeksi intraperitoneal dosis 170 mg/kgBB lalu diberikan waktu minimal 48 jam untuk mengkondisikan diabetes.^{9,10} Kemudian tikus diberikan ekstrak biji alpukat yang diproses dengan metode *milling* secara sonde lambung. Setelah lima hari, maka kadar gula darah pada tikus diukur. Penelitian ini disetujui oleh Komisi Etik FKIK UNIKA Atma Jaya, dengan no penelitian 29/07/KEP-FKUAJ/2019. Analisis dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, *one-way Anova* dan *post hoc Tukey HSD*.

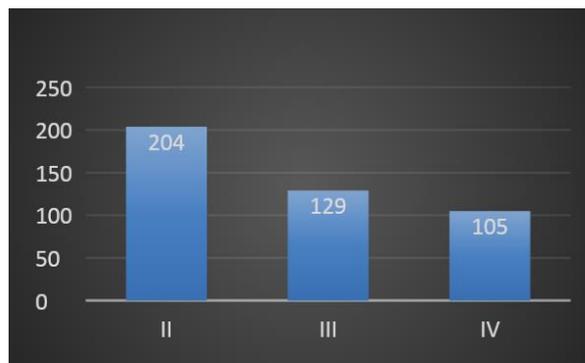
HASIL

Pengukuran kadar gula darah pada tikus coba dilakukan tiga kali, pada saat sebelum induksi aloksan, 48 jam setelah induksi aloksan, dan setelah dilakukan intervensi dengan ekstrak biji alpukat. Hasil pengukuran dari gula darah terpapar pada tabel 1.

Kadar gula darah sewaktu yang normal pada tikus adalah sekitar tidak lebih dari 180mg/dL. Bila di atas 180mg/dL maka dianggap diabetes sehingga diterima sebagai sampel¹¹. Tikus perlakuan mengalami kenaikan tinggi pada setiap kelompok setelah induksi aloksan. Bila dilihat dari penurunan gula tiap kelompok, maka perubahan terbesar terjadi pada kelompok II (dosis 150mg/dL).

Tabel 1. Rerata kadar gula darah sebelum induksi, sesudah induksi, dan sesudah intervensi

Variabel	Kelompok	Rerata sebelum induksi aloksan	Rerata sesudah induksi aloksan	Rerata setelah intervensi ekstrak biji alpukat
Kadar gula darah (mg/dL)	I	106,60	115,00	106,00
	II	74,33	512,33	308,33
	III	57,33	386,33	257,33
	IV	65,66	448,00	343,00



Gambar 1. Grafik penurunan rerata kadar gula darah tikus

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* pada perubahan kadar gula darah setelah induksi aloksan. Kelompok I, II, III dan IV secara berurutan didapatkan nilai p sebesar 0,298; 0,353; 0,591; dan 0,305. Hasil tersebut menyatakan bahwa distribusi data normal ($p>0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan *one-way ANOVA*. Hasil uji statistik dengan *one-way ANOVA* pada kelompok I, II, III, dan IV didapatkan nilai $p=0,00$, menunjukkan bahwa terdapat perubahan bermakna pada kadar gula darah setelah induksi aloksan ($p<0,05$).

Uji normalitas kadar gula darah setelah intervensi ekstrak biji alpukat memberikan nilai p secara berurutan pada kelompok I, II, III, dan IV yaitu 0,862; 0,481; 0,117; dan 0,694. Hasil tersebut menyatakan bahwa distribusi data normal ($p>0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji statistik menggunakan *one-way ANOVA*. Hasil uji statistik dengan *one-way ANOVA* pada kelompok I, II, III, dan IV didapatkan nilai $p=0,046$, menggambarkan terjadi perubahan bermakna pada kadar gula darah setelah diberikan ekstrak basah biji alpukat ($p<0,05$).

Tabel 2 .Tabel hasil *Tukey HSD*

No	Perlakuan	Nilai p
1	Kontrol (I) vs Dosis 150 (II)	0.123
2	Kontrol (I) vs Dosis 300 (III)	0.309
3	Kontrol (I) vs Dosis 450 (IV)	0.062
4	Dosis 150 (II) vs 300 (III)	0.947
5	Dosis 150 (II) vs 450 (IV)	0.983
6	Dosis 300 (III) vs 450 (IV)	0.802

DISKUSI

Hasil pemeriksaan pada hari kelima menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah yang bermakna pada ketiga kelompok. Penurunan kadar gula darah pada tikus percobaan disebabkan oleh kandungan tanin pada biji alpukat¹². Tanin juga tergolong sebagai astringen yang berperan untuk melindungi permukaan usus manusia dengan mempresipitasi protein selaput lendir usus, sehingga melapisi usus dan menghambat absorpsi glukosa yang menyebabkan peningkatan gula darah tidak terlalu cepat pada penderita diabetes.¹³ Alpukat juga mengandung flavonoid yang menurut penelitian membantu regenerasi sel beta pancreas dan meningkatkan efektivitas insulin dalam membantu sel menyerap glukosa.¹⁴ Alpukat mempunyai banyak dampak terhadap penderita diabetes dalam menurunkan gula darah seperti yang terlihat pada kadar gula darah tikus pada penelitian ini.

Gambar 1 menunjukkan perubahan dari kadar gula darah tiap kelompok. Sumbu X menunjukkan kelompok perlakuan pada tikus yaitu kelompok II, III dan IV, sedangkan sumbu Y menunjukkan penurunan kadar gula darah dengan satuan mg/dL. Penurunan terbesar terjadi pada kelompok II (dosis 150mg/kgBB), yaitu terdapat penurunan rerata kadar gula darah sebanyak 204 mg/dL. Pada kelompok III (dosis 300 mg/kgBB) terdapat penurunan 129 mg/kgdL, sedangkan kelompok IV (dosis 450 mg/kgBB) terdapat penurunan 105 mg/dL. Berdasarkan penurunan pada

kadar gula darah, maka dosis 150 mg/dL adalah dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah, meskipun tidak bermakna secara statistik dibandingkan 2 dosis lainnya.

Penurunan kadar gula darah yang berkurang dengan meningkatnya dosis ekstrak tidak sesuai ekspektasi peneliti. Pada obat-obatan konvensional, terdapat relasi dosis-efek yang proporsional. Berdasarkan *law of mass action* kepada kurva konsentrasi-efek, jika konsentrasi zat aktif yang dikonsumsi lebih banyak maka akan terjadi peningkatan efek obat.¹⁵ Namun pada penelitian ini dosis terendah justru menyebabkan penurunan kadar gula darah yang paling tinggi.

Efektivitas yang menurun saat dosis meningkat menunjukkan bahwa dosis efektif lebih rendah dari 300 mg/kgBB. Pada penelitian tahun 2013, tidak ada perbedaan yang signifikan antara efektivitas dosis biji alpukat dengan dosis 300, 600, dan 1200 mg/kgBB.⁴ Penurunan kadar gula darah pada setiap kelompok pada penelitian tersebut tidak berbeda jauh saat dosis ditingkatkan lebih dari 300 mg/kgBB. Penelitian lain menyatakan bahwa dosis toksik untuk biji alpukat adalah 500 mg/kgBB sehingga pada saat dosis meningkat mendekati 500 mg/kgBB efektivitas dari ekstrak biji alpukat berkurang.¹⁴

Perbandingan efektivitas dari ekstrak biji alpukat yang diproses dengan *milling* 10 menit dengan penelitian lainnya dilakukan pada dosis yang sama yaitu 300 mg/kgBB.⁴ Penurunan kadar gula darah pada penelitian ini adalah 129 mg/dL, sedangkan pada penelitian sebelumnya terdapat penurunan 103,8mg/dL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak yang diproses dengan metode *milling* menghasilkan penurunan yang lebih besar. Namun belum dilakukan uji statistik untuk membandingkan dengan hasil penelitian yang diproses dengan metode *non-milling*, maupun dengan penelitian lain yang mempunyai jumlah hari uji yang sama.

Keterbatasan penelitian berada pada alat pemeriksa kadar gula darah (glukometer) yang digunakan serta perilaku tikus percobaan. Glukometer yang digunakan dapat memberikan hasil yang sedikit berbeda berdasarkan jumlah darah yang diteteskan. Perilaku tikus coba tidak dapat diregulasi sepenuhnya.

SIMPULAN

Seluruh dosis ekstrak biji alpukat dalam penelitian ini menyebabkan penurunan kadar gula darah yang bermakna secara statistik dengan hasil. Penurunan terbanyak adalah pada dosis 150 mg/kgBB, namun tidak bermakna secara statistik. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimal untuk memaksimalkan efektivitas ekstrak biji alpukat yang akan digunakan sebagai terapi pada diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada *Animal Research Facilities* (ARF) IMERI FKUI.

DAFTAR PUSTAKA

1. Situasi dan Analisis Diabetes. DKI Jakarta: Pusat Data dan Informasi KEMENTERIAN KESEHATAN RI; 2014:2.

2. Global report on diabetes. Geneva: World Health Organization; 2016
3. Diabetes - Symptoms and causes [Internet]. Mayo Clinic. 2018 [cited 21 November 2018]. Available from: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/diabetes/symptoms-causes/syc-20371444>
4. Asif M. The prevention and control the type-2 diabetes by changing lifestyle and dietary pattern. *Journal of Education and Health Promotion*. 2014;3(1):1.
5. Oktaria Y. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Tikus Galur Wistar yang diinduksi Aloksan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta ; 2013.
6. Ezejiyor A, et al. Hypoglycaemic and Tissue-Protective Effects of the Aqueous Extract of *Persea americana* Mill. Seeds on Alloxan-Induced Albino Rats. *Malays J Med Sci*. 2013;20(5).
7. Susanty S, Bachmid F. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung(*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*. 2016;5(2):87.
8. Ighodaro O, Adeosun A, Akinloye O. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina*. 2017;53(6):365-374.
9. Andrews K. Intraperitoneal (IP) Injection in Rats and Mice SOP [Internet]. [Animalcare.ubc.ca](https://animalcare.ubc.ca). 2019 [cited 19 March 2019]. Available from: <https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/TECH%2010%20IP%20Injections%20in%20t>
10. Intraperitoneal Injection in the Mouse – Procedures With Care [Internet]. [Procedureswithcare.org.uk](http://www.procedureswithcare.org.uk). 2019 [cited 4 July 2019]. Available from: <http://www.procedureswithcare.org.uk/intraperitoneal-injection-in-the-mouse/>
11. Wang Z, et al. [Estimation of the normal range of blood glucose in rats]. *Pubmed* [Internet]. 2010 [cited 10 April 2020];. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20459020>
12. Ejiyor NC, Ezeagu IE, Ayoola M, Umera EA. Determination of the chemical composition of avocado (*Persea americana*) seed. *Adv Food Technol Nutr Sci Open J*. 2018; SE(2): S51-S55.
13. Marella S. Flavonoids-The Most Potent Poly-phenols as Antidiabetic Agents: An Overview. *Modern Approaches in Drug Designing*. 2017;1(3).
14. Padilla-Camberos E, Martínez-Velázquez M, Flores-Fernández JM, Villanueva-Rodríguez S. Acute Toxicity and Genotoxic Activity of Avocado Seed Extract (*Persea americana* Mill. Mill., c.v. *Hass*). *The Scientific World Journal*. 2013:1–4.
15. Aronson J, Ferner R. The law of mass action and the pharmacological concentration-effect curve: resolving the paradox of apparently non-dose-related adverse drug reactions. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2015;81(1):56-61.