

UJI AKTIVITAS ANTIARTHRITIS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) PADA TIKUS JANTAN YANG DIINDUKSI COMPLETE FREUND'S ADJUVANT (CFA)

Odilia Dea Christina, Affiah Khourinissa

Falkutas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta-57127, Indonesia

Email : deachristinao@gmail.com

ABSTRAK

Arthritis reumatoid adalah penyakit kronis yang menyebabkan inflamasi pada persendian khususnya pada jari-jari, pergelangan dan lutut yang dikarakterisasi dengan munculnya rasa nyeri serta pembengkakan sendi. Pengobatan artitis dapat menggunakan bahan alam. Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah biji alpukat. Biji alpukat mengandung senyawa polifenol, flavonoid, triterponoid, alkaloid, tannin, saponin yang memiliki aktivitas antiarthritis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiarthritis, mengetahui profil penurunan volume udem, dan perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus jantan yang diinduksi CFA, setelah pemberian ekstrak etanol biji alpukat

Metode penelitian adalah eksperimental menggunakan hewan uji diinduksi CFA sebelum diberi perlakuan. Sediaan uji berupa suspensi ekstrak yang diberikan selama 7hari, volume udem kaki tikus diukur setiap hari. Kelompok pertama ekstrak biji alpukat dosis 1.96 g/kg BB, kelompok kedua ekstrak biji alpukat dosis 3.92 g/kg BB, kelompok ketiga ekstrak biji alpukat dosis 0.98 g/kg BB, kelompok keempat kontrol positif triamsinolon dosis 0.36 g/kg BB, kelompok kelima kontrol negative CMC 0,5%. Parameter yang diamati adalah presentase penurunan volume udem dan profil histopatologi sendi dan dianalisis dengan SPSS.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat memberikan efek antiarthritis. Dosis yang efektif menurunkan volume udem adalah 1,96 g/kg BB, dibuktikan pada profil histopatologi memberikan gambaran ruang sendi kaki tikus kelompok uji lebih bersih dan mengandung infiltrasi sel yang lebih sedikit dibanding kontrol negatif.

Kata kunci : biji alpukat, *complete freund's adjuvant*, ekstrak etanol, antiarthritis

PENDAHULUAN

Arthritis atau sering disebut rematik adalah penyakit yang menyerang persendian dan struktur yang ada pada sekitar persendian (Nainggolan 2009). Penyakit ini dapat menyerang segala umur tetapi umumnya pada umur sekitar 40-60 tahun (Bodman & Roitt 1994). Penyakit reumatik artitis sering kali hanya dianggap sepele oleh penderita karena gejala yang seperti orang flu pada umumnya, tetapi sebenarnya reumatik artitis dapat menyebabkan kematian.

Arthritis Foundation (AF) menyebutkan obat yang dapat digunakan untuk mengobati arthritis yaitu: obat

antiinflamasi atau AINS, kortikosteroid dan antireumatik. Penggunaan obat-obat ini dapat menimbulkan efek samping dan toksisitas. Penggunaan antiinflamasi dapat menimbulkan kerusakan renal, ulserasi, dan perdarahan saluran cerna, sedangkan penggunaan kortikosteroid dapat menimbulkan hipertensi, hiperglikemia, dan osteoporosis (Yulinah 2008). Penggunaan AINS dapat menimbulkan gangguan fungsi ginjal akut (Nugroho 2012). Adanya efek samping dan toksisitas yang ditimbulkan sehingga banyak penelitian tanaman obat tradisional yang berkhasiat sebagai anti

arthritis, dengan resiko terjadinya efek samping lebih rendah.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan adalah biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Jayaprakasam dan Ravi (2012) menunjukkan hasil adanya aktivitas antiarthritis diduga karena adanya kandungan steroid, flavonoid dan alkaloid. Biji alpukat mengandung senyawa polifenol, flavonoid, triterponoid, kuionon, tannin, saponin, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antiradang (Wijayakusuma 1998). Ekstrak biji alpukat mempunyai efek antiinflamasi. (Rahayu,2009). Berdasarkan penelitian sebelumnya maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiarthritis biji alpukat dan perbaikan profil histopatologi pada kaki tikus jantan yang diinduksi CFA.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pletismometer, jarum suntik 27 G1/2 (Terumo (Philippines), suit 1; 5 ml (Terumo (Philippines) Corporation, Filipina), sonde oral, timbangan analitik (Ohaus, USA), timbangan hewan (A&D, Jepang), dan alat-alat gelas.

Bahan sampel yang digunakan adalah biji alpukat yang disari dengan cara maserasi. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah air, etanol 96%, pereaksi CFA, formal saline 10%, larutan Von Ebner's, amonium oksalat 5%, alkohol, xylol, parafin, balsem canada, Heamotoxylin dan Eosin (H & E). Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus jantan albino galur Wistar. berumur 2 – 3 bulan dengan berat 180 - 200 gram yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah

Pembuatan ekstrak etanol biji alpuka

Ekstrak etanol biji alpukat dibuat dengan cara maserasi. Serbuk biji alpukat diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1,0 : 7,5. Ekstraksi dilakukan selama 5 hari sambil diaduk setiap hari. Hasil maserasi dievaporasi dengan alat evaporator dengan suhu kurang <50°C.

Identifikasi kandungan senyawa kimia

Identifikasi flavonoid 1 ml larutan ditambah 1gram serbuk Mg dan 10 tetes HCl pekat P, jika terjadi warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid. dengan pereaksi. Identifikasi alkaloid larutan ekstrak direaksikan dengan pereaksi mayer memberikan endapan putih, dengan pereaksi Wagner memberikan endapan berwarna coklat dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna jingga (Harborne 1987). Uji triterpeoid dan steroid sample ditambahkan asam asetat glasial dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah, jingga atau ungu, sedangkan steroida ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru (Sangi *et al.*, 2008). Identifikasi saponin sampel ditambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil. Identifikasi tanin sampel ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau hijau (Sangi *et al.*, 2008).

Perlakuan hewan uji

Tikus yang akan digunakan untuk penelitian diadaptasikan pada lingkungan yang baru selama tiga hari. Selama masa adaptasi tikus diberi pakan standard dan minum secara *ad libitum*. Hewan uji ditempatkan dalam kandang dengan kondisi laboratorium standar (siklus gelap/terang 12/12 suhu 25°C). Tikus

dikelompokkan menjadi 5 kelompok besar yaitu kelompok ekstrak biji alpukat dosis 1, kelompok ekstrak biji alpukat dosis 2, kelompok ekstrak biji alpukat dosis 3, kontrol negatif dan kontrol positif. dalam penelitian ini dosis yang digunakan adalah 0,98 g/kg BB, 1,96 g/kg BB dan 3,92 g/kg BB.

Uji aktivitas antiartritis

Pada tiap hewan uji yang diberi perlakuan diinjeksikan pereaksi CFA sebanyak 0,2 ml pada permukaan planar kaki belakang tikus, kemudian diamati adanya derajat pembengkakan yang terjadi. Jika telah terjadi udem pada kaki tikus dan belum diberikan perlakuan ekstrak uji dinamakan sebagai hari ke-0 (*untreated*), sedangkan pemberian perlakuan ekstrak uji dilakukan pada hari ke-1 hingga hari ke-7 (*treated*). Dari hari ke-0 hingga hari ke-7, berat badan tiap tikus ditimbang dan derajat pembengkakan kaki pada tiap tikus diukur dengan menggunakan alat *plethysmograph*. Volume kaki diukur pada hari ke-0 hingga hari ke-7. Pada hari ke-12 hewan dikorbakan dan diambil bagian persendian kaki yang bengkak untuk dilakukan uji histopatologi (Yuneka 2014).

Uji histopatologi persendian

Uji histopatologi persendian dilakukan pada hari ke-12 berdasarkan SOP Laboratorium Histopatologi dan Biologi Sel UGM 2012. Fiksasi jaringan dengan formalin dalam PBS pH 7,4. Tahap dekalsifikasi untuk menghilangkan kalsium pada jaringan. Selanjutnya tahap dehidrasi untuk menghilangkan kadar air pada persendian, sehingga lebih lipofil dan dapat menyatu dengan parafin saat dilakukan proses *embedding* dan tahap pembuatan blok parafin. Selanjutnya tahap deparafinasi dan rehidrasi. Dilanjutkan tahap pewarnaan ini merupakan pewarnaan rutin pada jaringan dan sel. Hematoksilin akan mengecat inti

sel berwarna biru, sedangkan eosin akan mengecat sitoplasma dan matriks ekstraseluler berwarna merah. Tahap dehidrasi setelah pewarnaan bertujuan untuk memudahkan warna hematoksilin dan eosin. Pembacaan sampel dengan mengamati letak kerusakan jaringan sendi dan menginterpretasikan parameter perubahan histologi jaringan sendi (Yuneka 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak Biji Alpukat

Ekstrak etanol biji alpukat diperoleh dengan cara maserasi karena pengerjaan dan peralatan sederhana, serta mudah diusahakan. Selain itu zat aktif dari biji alpukat yang memiliki aktifitas antiartritis pada umumnya merupakan senyawa nonvolatile sehingga sangat cocok bila diekstraksi dengan maserasi yang tanpa pemanasan karena tidak menyebabkan terjadinya degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas (Depkes 2000). Hasil pembuatan ekstrak etanol biji alpukat menghasilkan rendemen 12,5%*b/b*

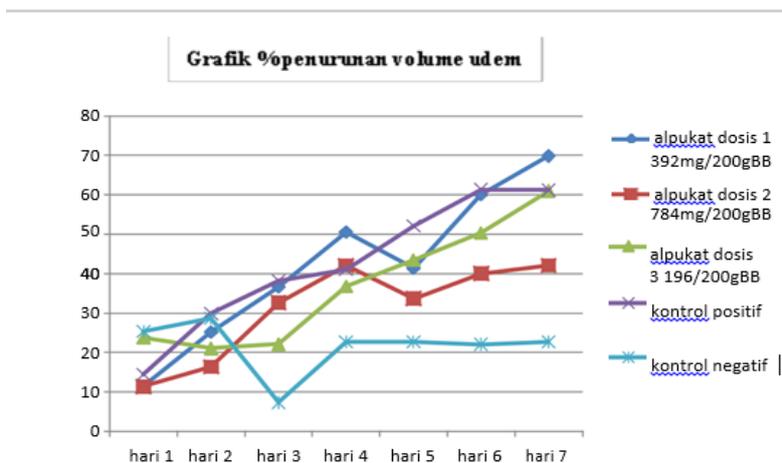
Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak biji alpukat

Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak etanol biji alpukat dilakukan untuk mengetahui zat aktif yang terkandung dalam biji alpukat. Senyawa yang diidentifikasi merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antiartritis yaitu alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpen menunjukkan hasil positif.

Hasil pengujian akvitas antiartritis

Persentase penurunan volume udem adalah besarnya efektivitas ekstrak uji dalam menurunkan volume udem yang dinyatakan dalam satuan persen (%). Persentase penurunan volume udem ini diperoleh dari perhitungan data volume udem pada hari ke-0 sampai ke-7, dimana dalam perhitungan ini volume udem hari ke-0 (V_0) yang menjadi tolok ukurnya. Data hasil pengukuran volume udem kaki

tikus selengkapnya dapat dilihat pada gambar 1.

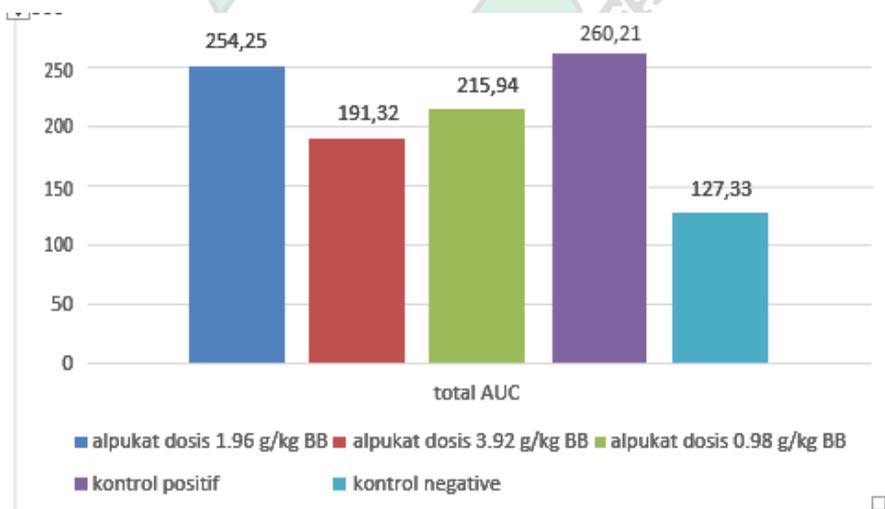


Gambar 1. Grafik persen penurunan volume udem

Data persen penghambatan volume udem dianalisis statistik menggunakan ANOVA ($p < 0,05$) untuk mengetahui adanya perbedaan secara nyata efek antiartritis pada masing-masing kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil analisis statistik kelompok kontrol positif, ekstrak biji alpukat dosis 1.96 g/kg BB dan ekstrak biji alpukat dosis 0.98 g/kg BB tidak mempunyai perbedaan yang nyata karena berada dalam satu kelompok.

Artinya ketiga kelompok tersebut memberikan efek yang setara terhadap presentase penurunan udem pada kaki tikus.

Data hasil rata-rata presentase penurunan udem pada kaki tikus didapatkan data AUC yang menunjukkan total aktivitas penurunan volume udem dimana nilai AUC yang besar sebanding dengan penurunan volume udem. Nilai AUC dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Nilai AUC

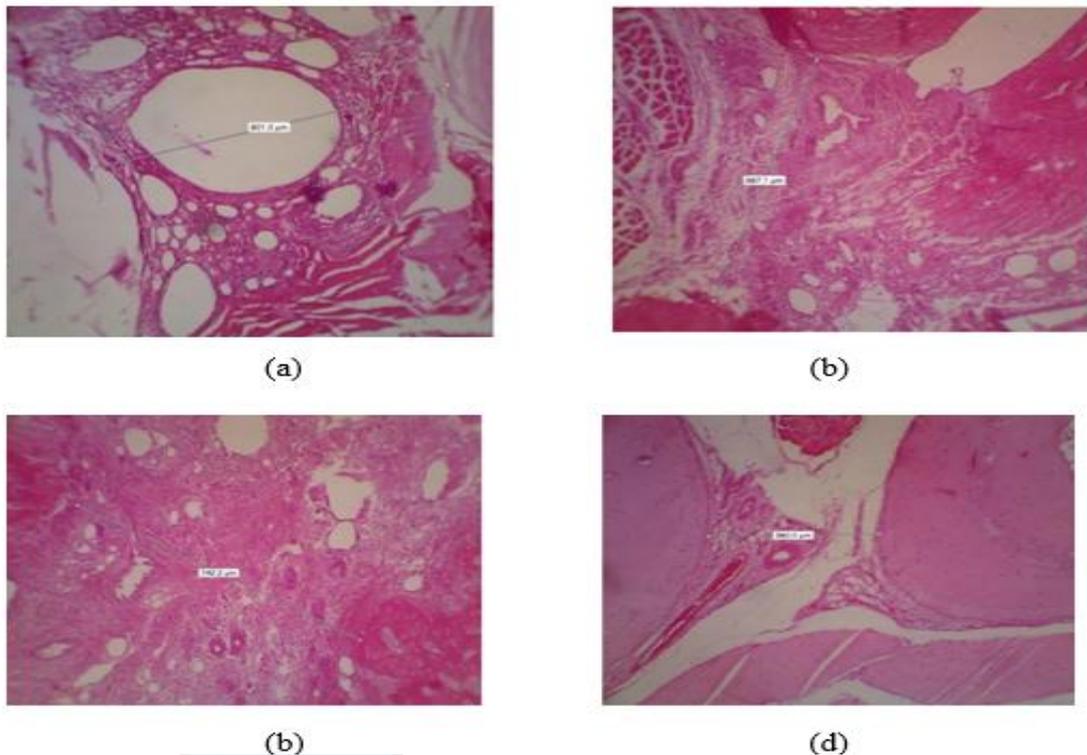
Total aktifitas penurunan volume udem terbesar yaitu kontrol positif triamsinolon. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Katzung (2002) bahwa triamsinolon berkhasiat sebagai anti-inflamasi dengan menghambat enzim

prospolifase sehingga pelepasan asam arakidonat yang dibutuhkan untuk mengaktifasi jalur enzim berikutnya dapat dicegah, sehingga pembentukan prostaglandin, tromboksan, prostasiklin, dan leukotriene terganggu.

Ekstrak biji alpukat dapat menurunkan volume udem karena mempunyai antioksidan non enzimatis seperti polifenol dan tanin yang berfungsi sebagai pemakan radikal bebas. Komponen tersebut memberikan atom hidrogen untuk mengikat dan menetralkan radikal bebas sehingga mengendalikan dan mengurangi reaksi autooksidasi lipid dengan cara melindungi membran sel tubuh dalam mengurangi inflamasi. Antioksidan bekerja melalui penghambatan reaksi autooksidasi lipid (Confroti *et al.*, 2009 & Zhou 2011). Kandungan kimia lainya yaitu flavonoid mekanisme menghambat terjadinya radang melalui dua cara, yaitu pertama menghambat pelepasan asam arakidonat

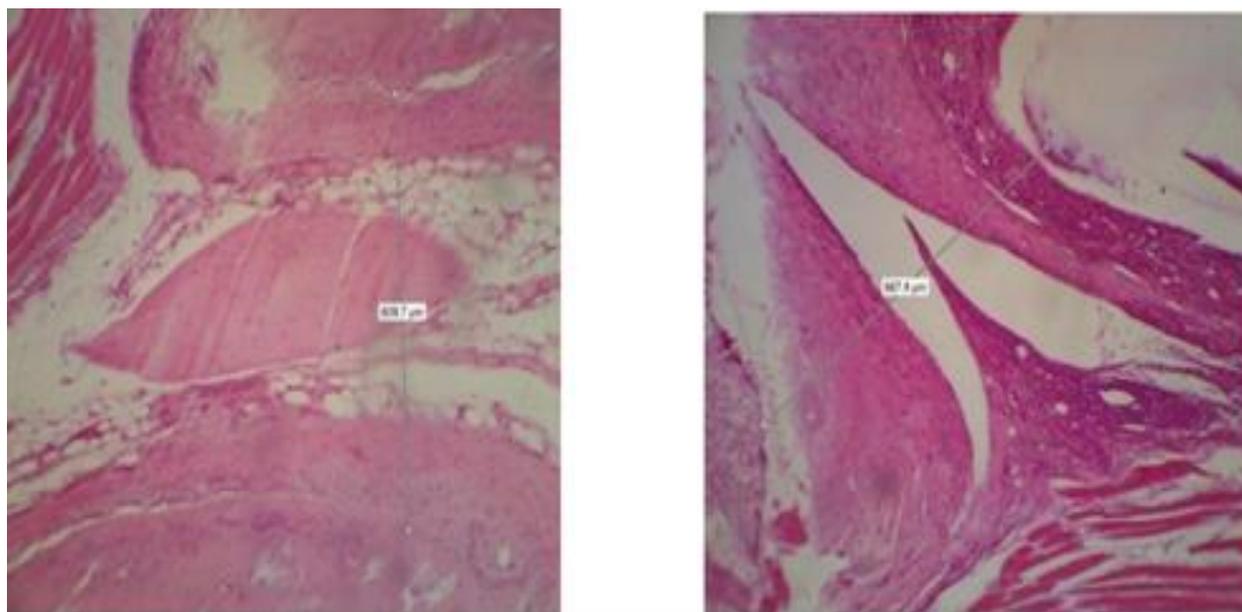
neutrofil dan sel endotelial dan kedua menghambat fase proliferasi dan fase eksudasi dari proses radang (Rahayu 2009).

Perbandingan profil histopatologi persendian pada kaki tikus normal dengan profil kaki tikus dengan kontrol negatif CMC 0,5% dapat dilihat pada gambar 3. Berdasarkan gambar 3 terlihat bahwa ruang sendi pada kelompok kaki normal dalam keadaan bersih dan tidak terdapat infiltrasi sel sedangkan pada kontrol negatif terdapat infiltrasi sel. Pada kondisi arthritis terjadi perubahan histologi pada persendian sebagai akibat dari masuknya sel inflamasi, hyperplasia synovial dan infiltrasi sel monomorfonuklear dan polimorfonuklear kedalam ruang sendi.



dan sekresi enzim lisosom dari sel

Gambar 3. Profil histopatologi persendian pada kaki tikus normal dan kaki tikus yang diberi control negative CMC 0,5%



Gambar 4. Profil histopatologi persendian kaki tikus kelompok dosis 1,96 g/kg BB (a), kelompok dosis 0,980 g/kg BB (b), kelompok dosis 3,92 g/kg BB (c), dan control positif triamsinolon (d)

Ruang sendi pada kelompok uji lebih bersih dan mengandung infiltrasi sel yang lebih sedikit dibanding kontrol negatif. Kelompok uji menunjukkan perbaikan pada profil histopatologi kaki tikus. Ekstrak biji alpukat dapat memperbaiki profil histopatologi karena mengandung polifenol dan tanin. Menurut Chen et al. (2012) dan Lee & Lee (2008) polifenol dan tanin mengendalikan reaksi autooksidasi sehingga tidak mampu merusak rantai asam lemak dalam menurunkan produksi radikal bebas dan menghambat terjadinya jalur siklooksigenase, sehingga akan mengurangi respon inflamasi kemudian membentuk perbaikan jaringan pada permukaan kartilago. Berdasarkan gambar 4 memperlihatkan perbandingan profil histopatologi persendian kaki tikus pada masing-masing kelompok perlakuan dengan ekstrak uji dan kontrol positif, dimana pada kelompok uji memberikan gambaran yang lebih baik dibanding pada kontrol negatif.

Berdasarkan hasil pengujian yang telah diamati dapat diketahui bahwa pada keadaan arthritis terdapat udem pada kaki tikus, dimana ukuran volume udem

diakibatkan adanya inflamasi pada persendian. Inflamasi ini terjadi karena kondisi arthritis yang muncul setelah di induksi pereaksi CFA yang menyebabkan sel darah putih mensekresikan zat kimia seperti IL-1 dan TNF- α sehingga menghasilkan nyeri, pembengkakan dan kerusakan sendi. Pelepasan berbagai sitokin dan mediator inflamasi ini menyebabkan cairan sinovial berkembang biak dan menyebar membentuk *pannus* kemudian muncul fibrosis

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil peniitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol biji alpukat dapat memberikan efek antiarthritis terhadap tikus jantan yang mengalami pembengkakan sendi kaki akibat arthritis yang diinduksi CFA dengan dosis efektif sebagai antiarthritis dosis 1,96 g/kg BB. Ekstrak etanol biji alpukat dapat memperbaiki profil volume udem dan profil histopatologi pada kaki tikus yang diinduksi CFA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah memberikan dana pada penulis dan semua pihak yang telah berkontribusi pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bodman KB, I.M. Roitt. 1994. The pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Fundamental and Clinical Rheumatics*. 2:73-81.
- Conforti FS *et al.* 2009. The protective ability of Mediterranean dietary plants against the oxidative damage: The role of radical oxygen species in inflammation and the polyphenol, flavonoid and sterol content. *J. Food Chemistry* 112:587-594.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jilid II. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 265-266.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2006. *Pharmaceutical Care untuk Pasien Penyakit Arthritis Rematik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 23-25.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed ke-4. Terjemahan dari: Kosasih P dan Soediro L. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Buku 2 Ed ke-8. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology* 8thed. hlm 449-462.
- Lee HC, Lee HS. 2008. Acaricidal Activity and Function of Mite Indicator Using Plumbagin and Its Derivates Isolated from *Diospyros Kaki Thunb.* roots (*ebenaceae*). *J. Microbiol. Biotechnol* 18: 189- 193.
- Nainggolan O. 2009. Prevalensi dan Determinan Penyakit Rematik di Indonesia. *Majalah Kedokteran Indonesia* 59(12):588-594.
- Nugroho. 2012. Farmakologi Obat-obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan. Yogyakarta: *Pustaka Pelajar* 28:183-188.
- Rahayu Y.C. 2009. Respons Antiinflamasi Serbuk Biji Alpukat (*Persea mericana* mill) terhadap Jumlah PMN Neutrofil Mencit yang Diinduksi Bakteri *E. coli*. [Artikel Penelitian]. Jember: Bagian Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Reeves JR, Roux G, Lockhart R. 2001. *Medikal-Surgical Nursing*. Jakarta: Salemba Medika.
- Sangi M, Runtuwene MRJ, Simbala HEI, Makang VMA, 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1:47-53.
- Wijayakusuma H *et al.* 1998. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Jilid IV. Jakarta.
- Yulinah E, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AP, Kusnandar AD. 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT ISFI.
- Yuneka S. 2014. Aktivitas Antiartitis Kombinasi Ekstrak Etanol Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dan Tanaman Ciplukan (*Physallis angulata*L.) Terhadap Tikus yang Diinduksi *Complete Freund Adjuvant* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Zhou C, Zhao D, Sheng Y, Tao J, Yang Y. 2011. Carotenoids in Fruits of Different Persimmon Cultivars. *J. Molecules* 16: 624-636.