

## Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi SOD2 Tikus Diabetes Militus

**Fauziah**

Department of Chemistry, Faculty of MIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia;  
dilfasugito@gmail.com (koresponden)

**Nurhaida**

Department of Chemistry, Faculty of MIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia;  
haida\_yusuf@usk.ac.id

**Binawati Ginting**

Department of Chemistry, Faculty of MIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia;  
binawati@chem.unsyiah.ac.id

**Aulanni'am**

Biochemistry Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences / Faculty of Veterinary Medicine,  
Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia; aulani@ub.ac.id

### ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a chronic disease caused by damage to the pancreas. This research was conducted with the aim of looking at the potential of avocado seed extract (*Persia americana* Mill) as an alternative medicine for diabetes. This research was an experimental study using mice as experimental animals. In the *in vivo* test, mice were divided into 5 groups, namely: group 1 (healthy or untreated group) and groups 2, 3, 4 and 5 which were injected with streptozotocin (STZ) at a dose of 30 mg/kgBB intraperitoneally. Group 2 was a group of sick mice without therapy, while groups 3, 4, and 5 were groups of sick mice treated with ethanol extract of avocado seeds, at doses of 300, 350 and 400 mg/kgBW respectively for 14 days. In each group, blood glucose levels and SOD2 expression were examined using immunohistochemical techniques. Next, an analysis of differences in blood glucose levels and SOD2 expression between groups was carried out using the ANOVA test. The results of the analysis showed that therapy with ethanol extract of avocado seeds (*P. americana* Mill) showed a less significant reduction in blood glucose levels, but there was a significant increase in SOD2 expression ( $p < 0.05$ ). It was concluded that the ethanol extract of avocado seeds has potential as a basic ingredient for antidiabetic drugs.*

**Keywords:** ethanol extract of avocado seeds; blood glucose; superoxide dismutase

### ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang disebabkan oleh kerusakan pankreas. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat potensi ekstrak biji alpukat (*Persia americana* Mill) sebagai obat alternatif diabetes. Penelitian ini merupakan studi eksperimental menggunakan tikus sebagai hewan coba. Pada uji *in vivo*, tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu: kelompok 1 (kelompok sehat atau tanpa perlakuan) dan kelompok 2, 3, 4 dan 5 yang diinjeksi dengan streptozotocin (STZ) dosis 30 mg/kgBB di intraperitoneal. Kelompok 2 adalah kelompok tikus sakit tanpa terapi, sedangkan kelompok 3, 4, dan 5 merupakan kelompok tikus sakit yang diterapi dengan ekstrak etanol biji alpukat, di mana dosis masing-masing 300, 350 dan 400 mg/kgBB selama 14 hari. Pada masing-masing kelompok dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah dan ekspresi SOD2 dengan teknik imunohistokimia. Selanjutnya dilakukan analisis perbedaan kadar glukosa darah dan ekspresi SOD2 antar kelompok menggunakan uji ANOVA. Hasil analisis menunjukkan bahwa terapi dengan ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill) menunjukkan adanya penurunan kurang signifikan pada kadar glukosa darah, tetapi adanya peningkatan ekspresi SOD2 secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat berpotensi sebagai bahan dasar obat antidiabetes.

**Kata kunci:** ekstrak etanol biji alpukat; glukosa darah; superoksida dismutase

### PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) salah satu penyakit kronis dan mematikan di seluruh dunia.<sup>(1)</sup> Negara di wilayah Arab-Afrika Utara dan Pasifik Barat menempati pertama dan kedua dengan prevalensi diabetes pada penduduk umur 20-79 tahun tertinggi di antara 7 regional di dunia 12,2%, dan 11,4%.<sup>(2)</sup> Di wilayah Asia Tenggara, Indonesia menempati peringkat ke tiga dengan prevalensi sebesar 11,3%.<sup>(2)</sup> Daerah provinsi Aceh, penderita DM hampir 500.000 orang atau 9,8% dari total penduduk Aceh.<sup>(3)</sup>

Penyakit DM disebabkan oleh infeksi kronis pada pankreas sehingga tidak dapat memproduksi insulin (hormon yang mengatur glukosa) mengakibatkan terjadi ketidakaturan dalam sekresi insulin dan aktivitas insulin.<sup>(4)</sup> DM memiliki dampak negatif cukup besar pada kualitas hidup seperti kebebasan makan, aktivitas fisik dan kerja.<sup>(5)</sup> DM membutuhkan perawatan dan pengobatan jangka panjang untuk mengatur kadar glukosa darah dan memperbaiki kualitas hidup.

Pengobatan yang dilakukan salah satunya dengan pemanfaatan obat herbal yang mengandung senyawa fenol, flavonoid yang merupakan senyawa antioksidan. Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa biji alpukat mempunyai kemampuan sebagai antimikroba dan antioksidan.<sup>(6,7)</sup> Aktivitas antioksidan biji alpukat dapat ditentukan melalui pengujian total fenol dan kandungan senyawa fenol dalam biji alpukat adalah 44,89 mg/kg.<sup>(8)</sup> Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian tentang peran ekstrak etanol biji alpukat untuk menurunkan kadar glukosa darah dan penurunan kadar SOD2 pada hewan coba tikus, sehingga tujuan penelitian ini adalah menganalisis potensi ekstrak biji alpukat (*Persia americana* Mill) sebagai obat alternatif diabetes.

## METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia Fakultas MIPA dan Lab Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, pada bulan September 2021 sampai dengan Juli 2022. Sebagai penelitian yang melibatkan hewan coba, studi ini dilaksanakan dengan memperhatikan prinsip-prinsip etika penelitian.

### Preparasi Hewan Uji Tikus Putih (*R. norvegicus*)

Penelitian ini menggunakan 20 tikus wistar jantan sehat, berusia sekitar 3 bulan, dengan berat antara 130–230 g. Tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing berjumlah 4 ekor diadaptasikan di laboratorium hewan. Kelompok 1 merupakan kelompok tanpa perlakuan (tikus dengan kadar glukosa normal). Kelompok 2, 3, 4 dan 5 diinjeksi menggunakan STZ, dimana kelompok 3, 4 dan 5 adalah kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol biji alpukat secara oral (sonde) (Ref: 189/KEPH/XI/2022).

### Terapi Hewan Uji Menggunakan Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*P. Americana Mill*)

Pada tahap awal dilakukan pengambilan darah pada setiap tikus. Kemudian dilakukan pemeriksaan glukosa darahnya sebagai *baseline*. Kelompok 1 adalah kelompok tanpa perlakuan (tikus dengan kadar glukosa normal), dan kelompok 2, 3, 4 dan 5 diinduksi menggunakan STZ dengan dosis 30 mg/kgBB di intraperitoneal. Hari ketujuh setelah diinjeksi STZ, tikus dipuasakan selama 16 jam, kemudian diukur kembali kadar glukosa darahnya. Setelah puasa, kadar glukosa darah tikus kelompok 2, 3, 4 dan 5 mencapai >200 mg/dL (hiperglikemia). Kemudian kelompok 3, 4 dan 5 diterapi dengan ekstrak etanol biji alpukat secara oral (sonde) dosis berturut-turut 300, 350 dan 400 mg/kgBB. Setelah 14 hari terapi, diukur kembali kadar glukosa darah. Tahap selanjutnya adalah pembedahan tikus-tikus uji yang dilakukan berdasarkan metode.

### Pemeriksaan Ekspresi SOD2 dengan Teknik Imunohistokimia

Sel  $\beta$ -pankreas dalam bentuk preparat dicelup dalam xylol sebanyak 2 kali masing-masing selama 5 menit, setelah itu dilakukan rehidrasi dengan alkohol dari konsentrasi yang rendah sampai pada konsentrasi absolut (30%, 50%, 70%, 80% dan 17 90%) masing-masing selama 5 menit, kemudian dibilas dalam dH<sub>2</sub>O selama 5 menit. Selanjutnya dimasukkan kembali ke dalam H<sub>2</sub>O 3% selama 20 menit, lalu dicuci menggunakan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali selama 5 menit. *Blocking* protein nonspesifik dilakukan dengan menggunakan FBS 5%. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali, selama 5 menit, selanjutnya diinkubasi dengan ditambahkan antibodi primer [*Polyclonal Anti-SOD2 Antibody (Boster Biological Technology Co. Ltd. cat#:1345)*] selama 60 menit lalu dicuci dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali selama 5 menit. Selanjutnya, sediaan direaksikan dengan antibodi sekunder (*biotinylated secondary antibody*) selama 60 menit, lalu dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali selama 5 menit. Kemudian diinkubasi dengan septavidin-HRP selama 60 menit, lalu dicuci menggunakan PBS pH 7,4 sebanyak 3 kali selama 5 menit. Kemudian ditetesi dengan DAB dan diinkubasi selama 30 menit, lalu dicuci menggunakan dH<sub>2</sub>O selama 5 menit. Tahapan selanjutnya preparat tersebut dimasukkan dalam larutan *Mayer Hematoxylin* sebagai *counterstaining* dan diinkubasi selama 10 menit, lalu dicuci menggunakan air mengalir. Kemudian, dibilas dengan dH<sub>2</sub>O dan dikeringanginkan. Proses berikutnya adalah *mounting* menggunakan entellan lalu ditutup dengan cover glass.

### Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan uji ANOVA menggunakan program SPSS 20, untuk penentuan kadar glukosa darah dan ekspresi SOD2 yang bertujuan untuk melihat kadar glukosa darah dan ekspresi SOD2 pada tikus sebelum dan setelah perlakuan antar sakit dengan terapi (300, 350 dan 400 mg/kg BB).

## HASIL

### Penentuan Kadar Glukosa Darah pada Tikus

Tikus sakit diabetes melitus (DM) yang diterapi dengan ekstrak etanol biji alpukat selama 14 hari berturut-turut setelah dites terlihat adanya penurunan kadar glukosa darah pada setiap dosis terapi. Kadar glukosa darah untuk setiap terapi (300, 350 dan 400 mg/kgBB) terjadi penurunan berturut-turut 76, 80 dan 78% (Tabel 1). Kadar glukosa darah tikus sehat berda dalam rentang 50-135 mg/dL.<sup>(8)</sup>

Tabel 1. Persentase penurunan kadar glukosa darah setelah diterapi dengan ekstrak etanol biji alpukat.

Kelompok tikus	n (ekor)	Kadar glukosa darah (mg/dL)	
		Sebelum perlakuan (0 hari)	Setelah perlakuan (14 hari)
Sehat	4	79,25 ± 5,37	79,25 ± 5,37
Sakit DM	4	226 ± 30,92	216 ± 31,45
Terapi (dosis 300 mg/kgBB)	4	375,5 ± 140,93	88,75 ± 1,5
Terapi (dosis 350 mg/kgBB)	4	378 ± 122,56	73 ± 2,58
Terapi (dosis 400 mg/kgBB)	4	328,25 ± 164,77	71,25 ± 2,21

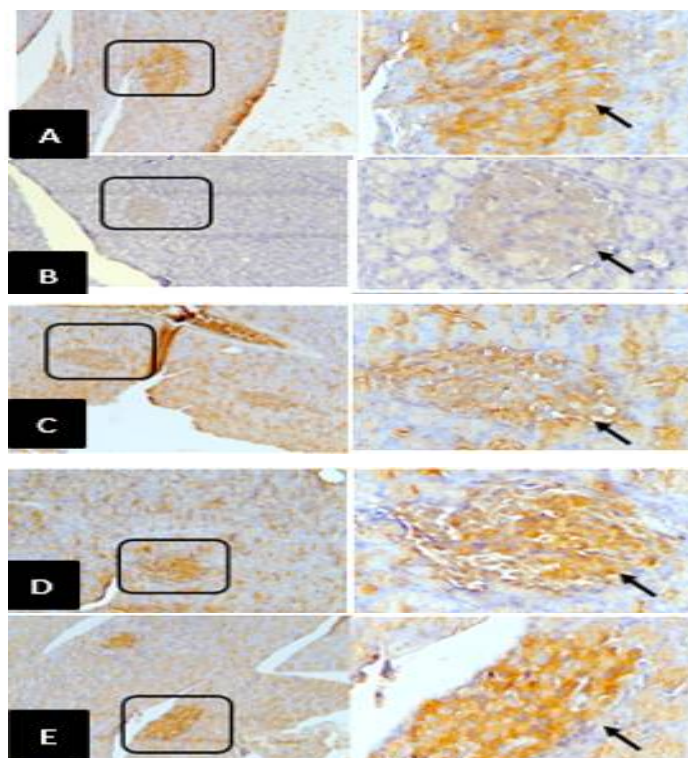
Keterangan: n: jumlah tikus

Berdasarkan Tabel 1, hasil pengukuran pada hari ke-0 menunjukkan kadar glukosa darah kelompok tikus sakit DM adalah 226 ± 30,92 mg/dL di mana kadar glukosa lebih tinggi dibanding kelompok tikus sehat yaitu 79,25 ± 5,37 mg/dL. Untuk kelompok tikus terapi, dosis ekstrak etanol biji alpukat yang diberikan adalah 300, 350 dan 400 mg/kgBB. Setelah 14 hari perlakuan kadar glukosa darahnya menunjukkan penurunan. Hal ini ditandai dengan turunnya kadar glukosa darah kelompok tikus terapi 300, 350 dan 400 mg/kgBB berturut-turut adalah 88,75 ± 1,5; 73 ± 2,58 dan 71,25 ± 2,21 mg/dL. Berdasarkan hasil analisis dengan statistik diperoleh perbedaan kurang signifikan penurunan kadar glukosa darah berdasarkan dari 0 hari perlakuan kelompok tikus

sakit dengan kelompok yang diterapi dosis 300, 350 dan 400 mg/kgBB, dengan persentase berturut-turut (63, 55,8 dan 57%).

### Ekspresi SOD2 Jaringan Sel $\beta$ -pankreas

Hasil pengamatan sel  $\beta$ -pankreas dengan teknik imunohistokimia (pewarnaan imunohistokimia) menunjukkan adanya noda coklat pada sel pankreas (Gambar 1). Noda coklat ini memberi makna bahwa adanya reaksi positif SOD2 pada inti sel. Banyaknya jumlah noda coklat di sel pankreas pada pulau Langerhans mengindikasikan tingginya ekspresi SOD2 dalam inti sel pankreas. Hal ini memberi gambaran bahwa sel berada dalam kondisi yang baik.



Gambar 1. Hasil imunohistokimia SOD2 A: tikus sehat; B: tikus sakit; C: tikus terapi dosis 300 mg/kgBB; D: tikus terapi dosis 350 mg/kgBB; E: tikus terapi dosis 400 mg/kgBB.

Gambar 1 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 400 mg/kgBB mengalami peningkatan ekspresi SOD2 dibandingkan kelompok tikus lainnya (Tabel 2). Peningkatan ekspresi ini dapat dilihat berdasarkan intensitas warna coklat yang terbentuk pada kelompok terapi. Jumlah sel  $\beta$ -pankreas pada jaringan pankreas tikus terapi lebih banyak dibandingkan dengan tikus sakit. Histologis pankreas yang diberi kimbul menunjukkan peningkatan jumlah sel  $\beta$ -pankreas dibanding kelompok perlakuan Na-CMC dan kelompok glibenklamid, dimana pewarnaannya dilakukan dengan teknik pewarnaan imunohistokimia dan *Chromium Hematoxylin Gomori*.<sup>(9)</sup>

Tabel 2. Rerata jumlah ekspresi SOD2 sel  $\beta$ -pankreas pada pulau Langerhans tikus sehat, tikus sakit dan tikus terapi

Kelompok perlakuan	Jumlah sel $\beta$ di pulau Langerhans
Sehat	6,00 $\pm$ 1,58
Sakit DM	2,40 $\pm$ 1,14
Terapi dosis 300 mg/kgBB	8,40 $\pm$ 1,81
Terapi dosis 350 mg/kgBB	9,40 $\pm$ 2,30
Terapi dosis 400 mg/kgBB	12,40 $\pm$ 1,94

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat peningkatan ekspresi SOD2 secara signifikan ( $p < 0.05$ ), peningkatan ekspresi SOD2 8,40  $\pm$  1,81, 9,40  $\pm$  2,30 dan 12,40  $\pm$  1,94 dalam dosis terapi berturut-turut yaitu 300 mg/kg BB, 350 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB. Berdasarkan Tabel 2, bertambahnya jumlah sel pada pulau Langerhans menggambarkan peningkatan enzim antioksidan (SOD2) tikus sehat dan tikus yang diterapi lebih tinggi dibandingkan tikus sakit DM. peningkatan ekspresi SOD2 terjadi pada pemberian ekstrak etanol *Centella asiatica* (L.) pada tikus yang mengalami stres.<sup>(10)</sup>

### PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak etanol biji alpukat mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, tanin dan saponin, dimana golongan senyawa tersebut kemungkinan dapat menurunkan kadar glukosa darah. Ekstrak etanol biji alpukat memiliki aktivitas antioksidan yang relatif tinggi sehingga dapat dipertimbangkan sebagai salah satu senyawa antioksidan alami, dan juga sebagai antidiabetes.<sup>(11)</sup> Ekstrak air biji alpukat dengan dosis 40 g/L menunjukkan aktivitas sebagai antidiabetes karena dapat menurunkan kadar glukosa

darah. Hal ini disebabkan karena ekstrak tersebut mengandung senyawa karbohidrat, alkaloid, glikosida, saponin, tannin dan flavonoid.<sup>(12)</sup> Ekstrak air biji alpukat dapat menurunkan kadar glukosa darah.<sup>(13)</sup> Selain itu ekstrak air biji alpukat juga dapat menurunkan tekanan darah dan kolesterol pada tikus yang menderita hipertensi.<sup>(14)</sup>

Hasil analisis menunjukkan bahwa jumlah sel  $\beta$ -pankreas di pulau Lagerhans pada jaringan pankreas bahwa tikus sakit lebih sedikit dibandingkan tikus yang terapi. Struktur histologis pankreas pada mencit hiperglikemik yang diberi umbi kimpul menunjukkan perbaikan pada pulau-pulau Lagerhans.<sup>(15,16)</sup> Perbaikan tersebut meliputi sel endokrin pada pulau Lagerhans yang mulai melakukan regenerasi ke bentuk normal, walaupun masih ditemukan beberapa sel endokrin yang mengalami degenerasi.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada tikus diabetes militus yang diterapi ekstrak biji alpukat dapat diambil kesimpulan bahwa: Pemberian ekstrak biji alpukat (*P. americana*) hasil analisis dengan statistik diperoleh perbedaan kurang signifikan penurunan kadar glukosa darah dan dapat meningkatkan ekspresi SOD2 pada pulau Langerhans sel pankreas tikus (*R. norvegicus*) yang menderita DM.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Arroyave F, Montaño D, Lizcano F. Diabetes mellitus is a chronic disease that can benefit from therapy with induced pluripotent stem cells. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 18;21(22):8685.
2. El-Kebbi IM, Bidikian NH, Hneiny L, Nasrallah MP. Epidemiology of type 2 diabetes in the Middle East and North Africa: Challenges and call for action. *World J Diabetes.* 2021 Sep 15;12(9):1401-1425.
3. Sofyan H, Diba F, Susanti SS. The state of diabetes care and obstacles to better care in Aceh, Indonesia: a mixed-methods study. *BMC Health Serv Res.* 2023;23:271.
4. Ahmad M, Rachmawaty R, Sjattar EL, Yusuf S. Prolanis implementation effective to control fasting blood sugar, hba1c and total cholesterol levels in patient with type 2 diabetes mellitus. *Report.* 2017;8(2).
5. Wahyuni YNN, Anna A. Kualitas hidup berdasarkan karakteristik pasien diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Keperawatan Padjadjaran.* 2014;2(1):25-34.
6. Dewi SR, Sulistyowati. Penggunaan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana Mill.*) sebagai antibakteri *Proteus mirabilis* dan *Aerobacter aerogene*. *Stigma.* 2013;6(2).
7. Sutrina EM, Azizah T, Yunita EO. The hypoglycemic effect of avocado seed (*Pesea americana Mill*) and hypophatologic profile. *Internasional Journal of Pharma and Bio Science.* 2015;6(4):136-141.
8. Djapiala F, Montolalu L, Mentang F. Kandungan total fenol dalam rumput laut *Caulerpa racemosa* yang berpotensi sebagai antioksidan. *Report.* 2013;8(2).
9. Azhari DM, Yuliet Y, Khaerati K. Uji aktivitas serbuk jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm*) terhadap kadar glukosa darah pada model hewan hiperkolesterolemia-diabetes. *Jurnal Farmasi Galenika.* 2016;2(2):96-101.
10. Hasanah. Profil sel beta pankreas pada tikus diabetes yang diberi umbi kimpul (*Xanthosoma sagittifolia (L.) Schott*). Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret; 2016.
11. Juananda DD, Mawaddah CRS, Nur AR. Ethanol extracts of *Centella asiatica (L.) Urb.* leaf increase superoxide dismutase-2 (SOD-2) expression on rat cerebellar purkinje cells after chronic stress. *Jurnal Ilmu Kedokteran.* 2017;11(2):59-117.
12. Malangngi LP, Sangi MS, Paendong JE. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana Mill.*) *Jurnal MIPA UNSRAT.* 2012;1(1).
13. Ezejiofor, Abednego O, Orish E.O. 2013. Hypoglycaemic and tissue-protective effects of the aqueous extract of persea americana seeds on alloxan-induced albino rats. *Malaysian Journal of Medical Sciences.* 2012;20(5):31-39.
14. Edem D, Ekanem I, Ebong P. Effect of aqueous extracts of alligator pear seed (*Persea americana Mill*) on blood glucose and histopathology of pancreas in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community.* 2009;22(3):272-276.
15. Imafidon KE, Amaechina FC. Effects of aqueous seed extract of *Persea americana Mill* (avocado) on blood pressure and lipid profile in hypertensive rats. *Advances in Biological Research.* 2010;4(2):116-121.
16. Imaduddin. Uji aktivitas anti hiperglikemia umbi kimpul (*Xanthosoma sagittifolia (L.) Schott.*) terhadap kadar gula darah mencit (*Mus musculus strain wistar*) yang diinduksi aloksan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2015.
17. Nurdiana S, Goh YM, Ahmad H, Dom SM, Syimal'ain Azmi N, Noor Mohamad Zin NS, Ebrahimi M. Changes in pancreatic histology, insulin secretion and oxidative status in diabetic rats following treatment with *Ficus deltoidea* and vitexin. *BMC Complement Altern Med.* 2017 Jun 2;17(1):290.