

## Toksistas Subkronis Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap Kadar Bilirubin Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Amanda Farliani<sup>1</sup>, Nur Alfiah Irfayanti<sup>2</sup>, Agus Sangka Pratama<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar

Corresponding Author

[amandafarliani65@gmail.com](mailto:amandafarliani65@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksistas subkronis akibat pemberian berulang ekstrak etanol dari biji alpukat (*Persea americana Mill*) secara oral. Biji alpukat diketahui mengandung senyawa kimia aktif seperti flavonoid, alkaloid, fenol, dan tanin. Penelitian ini difokuskan untuk mengamati reaksi atau pengaruh ekstrak tersebut pada dosis 700 mg/kg BB, 850 mg/kg BB, dan 1000 mg/kg BB terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 20 ekor tikus dipisah ke dalam empat kelompok. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif diberi Na-CMC 1%, sedangkan tiga kelompok lainnya menerima ekstrak biji alpukat sesuai dosis yang ditentukan selama 28 hari berturut-turut secara oral. Kadar bilirubin total dianalisis menggunakan alat *Clinical Analyzer* PENTRA 400. Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji alpukat pada ketiga dosis tersebut tidak menimbulkan efek toksik subkronis yang signifikan terhadap kadar bilirubin total, karena nilainya setara dengan kelompok kontrol negatif.

**Kata Kunci:** Toksistas, Ekstrak, Alpukat, Bilirubin Total

### ABSTRACT

This study aims to evaluate the subchronic toxicity resulting from repeated oral administration of ethanolic extract of avocado seeds (*Persea americana Mill*). Avocado seeds are known to contain active chemical compounds such as flavonoids, alkaloids, phenols, and tannins. The research focuses on observing the reaction or effect of the extract at doses of 700 mg/kg BW, 850 mg/kg BW, and 1000 mg/kg BW on the levels of total bilirubin in white rats (*Rattus norvegicus*). Extraction was carried out using a maceration method with 70% ethanol as the solvent. A total of 20 rats were divided into four groups. The first group, serving as a negative control, received 1% Na-CMC, while the other three groups were administered the avocado seed extract according to the specified doses for 28 consecutive days orally. Total bilirubin levels were analyzed using the *Clinical Analyzer* Pentra 400. The results showed that administration of the ethanolic extract of avocado seeds at all three doses did not cause significant subchronic toxic effects on total bilirubin levels, as the values were comparable to those of the negative control group.

**Keywords:** Toxicity, Extract, Avocado, Total Bilirubin

### PENDAHULUAN

Produk alam secara luas dikenal sebagai sumber utama dalam pengembangan obat baru, khususnya sebagai turunan dari metabolit sekunder atau bentuk senyawa alami yang telah dimodifikasi (Faradiba et al., 2023). Untuk menjamin keamanan penggunaannya, diperlukan uji klinis maupun praklinis, yang merupakan tahap dalam proses pengembangan suatu obat. Uji praklinis merupakan syarat utama dalam evaluasi kandidat obat (Hairunnisa, 2019) dengan tujuan memperoleh gambaran menyeluruh mengenai profil farmakologi, farmakokinetik, dan tingkat toksistas dari senyawa yang diuji. Uji toksistas subkronis secara khusus dilakukan untuk mengidentifikasi kemungkinan reaksi toksik akibat pemberian berulang secara oral selama 28 hari pada hewan percobaan. Pengujian ini mencakup evaluasi parameter hematologi, biokimia klinis, dan observasi histopatologi. Parameter biokimia klinis umumnya mencakup pengukuran elektrolit (natrium dan kalium), gula darah, kolesterol utuh, trigliserida, urea, kreatinin, protein penuh, GOT, GPT, serta bilirubin (BPOM, 2022)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Alim et al., 2022) mengungkapkan bahwa ekstrak biji alpukat memiliki kemampuan antioksidan yang sangat tinggi, dengan nilai IC50 sebesar  $37,7475 \pm 0,0441$  ppm. Sejalan dengan itu (Patala et al., 2020) menemukan bahwa senyawa aktif dalam biji alpukat matang secara efektif mengurangi tingkat glukosa darah terhadap tikus jantan dengan dosis 350 mg/kg BB, yang membuat pengurangan sebesar 99,8 mg/dL.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Marlinda et al., 2012) juga mengkaji toksisitas ekstrak biji alpukat muda dan kering jenis A dan B dengan memakai teknik *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) terhadap larva (*Artemia salina*). Nilai LC50 yang diperoleh yaitu 42,270 mg/L, 36,078 mg/L, 36,924 mg/L, dan 34,302 mg/L. yang menyatakan bahwa biji alpukat memiliki potensi toksik.

Berlandaskan temuan tersebut, diperlukan kajian lanjutan untuk mengevaluasi keamanan biji alpukat, terutama pada dosis tinggi atau penggunaan jangka panjang. Berdasarkan pedoman dosis maksimum dalam uji toksisitas subkronis adalah 1000 mg/kg BB. Tidak diperlukan peningkatan dosis lebih lanjut apabila tidak ditemukan efek toksik, meskipun dosis untuk manusia belum tercapai (BPOM, 2022) Salah satu penanda toksisitas adalah meningkatnya kadar bilirubin total, yang umumnya disertai dengan peningkatan bilirubin langsung atau tidak langsung. Pemantauan kadar bilirubin sangat penting karena menjadi indikator utama dalam menilai fungsi hati dan saluran empedu. Peningkatan bilirubin dapat menyebabkan perubahan warna pada jaringan maupun cairan tubuh (Usman et al., 2019)

Penelitian yang akan dilakukan ini untuk mengetahui keamanan biji Alpukat dalam jangka waktu lebih lama salah satunya yaitu pengujian toksisitas subkronis pada dosis yang berbeda-beda selama 28 hari. Efek toksisitas subkronis dengan memberikan ekstrak etanol biji alpukat dengan variasi dosis yaitu dosis 800 mg, 900 mg, dan 1000 mg pada tikus putih untuk melihat efek toksik yang ditimbulkan dengan parameter peningkatan kadar bilirubin Total. Manfaat dari penelitian ini untuk menambah data ilmiah biji Alpukat sebagai acuan atau pedoman bagi mahasiswa yang akan melakukan penelitian selanjutnya dan untuk menambah wawasan serta pengetahuan bagi peneliti.

## **METODE PELAKSANAAN**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret–Mei 2025 di laboratorium Biologi Farmasi, Farmakologi Toksikologi Universitas Islam Makassar dan pengukuran kadar Bilirubin total dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Kota Makassar. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dan data yang diperoleh

ditabulasi dan dianalisis dengan analisis secara paired t-test dan secara anova

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ayakan mesh 60, batang pengaduk, cawan porselin, *Clinical Analyzer* ABX Pentra bilirubin Total CP (Pentra C400), corong (pyrex®), Erlenmeyer (pyrex®), gelas kimia (iwaki®), gelas ukur (iwaki®), hot plate (thermolyne cimarec 2®), kandang hewan coba, lumpang dan alu, kanula tikus, spoit (One Med®), Timbangan analitik (newtwch NT-A®).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest (H<sub>2</sub>O), etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 70%, ekstrak biji alpukat (*persea americana Mill*), kertas saring, pipa kapiler (marienfeld®), reagen bilirubin, total tabung clot activator, tikus putih (*rattus norvegicus*)

### **Pengolahan Sampel**

Biji alpukat dibersihkan dengan air mengalir, ditiriskan, lalu dipotong kecil dan dikeringkan tidak menggunakan paparan cahaya matahari secara langsung.. Sesudah kering, biji digiling menjadi serbuk halus, diayak dengan mesh nomor 60, lalu ditimbang untuk proses ekstraksi.

### **Prosedur kerja**

#### **Pembuatan Ekstrak Biji Alpukat**

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, yaitu simplisia biji alpukat sebanyak 4000 g, kemudian dibasahi terlebih dahulu dengan pelarut etanol 70% sebanyak dua kali berat simplisia (20000 mL) selama kurang lebih dari 15 menit sampai simplisia basah, lalu ditambahkan etanol 70% sampai terendam, dibiarkan selama 2x24 jam dengan pengadukan sesekali dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya matahari. Setelah itu disaring untuk memisahkan filtrat dan ampasnya, filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental, lalu ditimbang untuk menghitung rendamen.

#### **Pembuatan Suspensi Na – CMC 1%**

Ditimbang Na-CMC sebanyak 1 gram, dimasukkan sedikit demi sedikit dalam erlenmeyer yang berisi air panas 50 mL (suhu 70°C) sambil diaduk hingga homogen. Kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL dan dicukupkan volumenya dengan air suling hingga tanda batas, dimasukkan dalam wadah yang tertutup rapat.

### **Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Biji Alpukat**

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Biji Alpukat Dibuat larutan ekstrak etanol biji alpukat dengan 3 variasi dosis yaitu 700 mg/kg BB tikus, 850 mg/kg BB tikus, dan 1000 mg/kg BB tikus. Dibuat dengan cara, yang pertama untuk dosis 700 mg/kg BB ditimbang ekstrak etanol sebanyak 2,8 g, untuk dosis 850 mg/kg BB ditimbang ekstrak etanol 3,4 g, dan untuk dosis 1000 mg/kg BB ditimbang ekstrak etanol 4 g untuk dosis 1000, untuk masing-masing dosis dipindahkan kedalam lumpang kemudian disuspensikan dengan CMC 1% sedikit demi sedikit sambil di gerus hingga homogen, kemudian dimasukkan dalam labu tentukur 100 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas.

### **Pengujian Toksisitas Subkronis**

#### **Penyiapan Hewan Uji**

Sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*), terdiri dari jantan dan betina berumur 6–8 minggu dengan berat badan antara 150-250 gram. Semua hewan harus berada dalam kondisi sehat, tidak memiliki kelainan anatomi, serta untuk tikus betina dipastikan belum pernah melahirkan dan tidak sedang dalam kondisi bunting. Sebelum perlakuan dimulai, tikus menjalani masa aklimatisasi selama tujuh hari di lingkungan yang terkendali dengan akses bebas terhadap pakan dan air minum. Selama periode ini, dilakukan pengamatan terhadap kondisi fisik, berat badan, serta respons perilaku hewan uji.

#### **Pengelompokan Hewan Uji**

Hewan uji yang telah di adaptasikan masing-masing ditimbang berat badanya. Tikus dikelompokan dalam 4 kelompok sesuai dengan jumlah perlakuan. Setiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus (3 jantan dan 2 betina).

#### **Pengujian Pada Hewan Uji**

Tikus yang digunakan sebanyak 20 ekor (12 jantan dan 8 betina) dan dipelihara dalam kandang bersekat. Masing-masing sekat ditempatkan 5 ekor tikus (3 jantan dan 2 betina) yang di bagi dalam kelompok.

- a. Kelompok 1 (kontrol negatif), diberi aquades 5 mL/200 g/BB tikus
- b. Kelompok 2, diberi suspensi ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 700 mg/KgBB
- c. Kelompok 3, diberi suspensi ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 850 mg/KgBB

- d. Kelompok 4, diberi suspensi ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 1000 mg/KgBB

Uji toksisitas subkronis dilakukan dengan memberikan perlakuan selama 28 hari. Sebelum perlakuan dimulai, tikus diaklimatisasi selama tujuh hari dalam kondisi lingkungan terkontrol dan diberi pakan serta air minum. Selama masa adaptasi, kondisi tikus diamati secara menyeluruh (fisik, berat badan, dan perilaku). Sekitar empat jam sebelum perlakuan pertama, tikus dipuasakan. Perolehan sampel hemoglobin dikerjakan lebih dulu perlakuan dan sesudah 28 hari pemberian perlakuan melalui sinus orbitalis untuk mengukur kadar bilirubin total menggunakan alat uji khusus.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Tabel 1. Hasil Rendamen Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)**

Simplisia	Ekstrak	Pelarut	Persen Rendamen
4000 g	360,88 g	20000 mL	9,02 %

**Tabel 2. Hasil Analisis Parameter Pengukuran Kadar Bilirubin Total**

Kelompok	Bilirubin Total Awal	Bilirubin Total Akhir
Na-CMC	0,12	0,10
Dosis 700	0,11	0,11
Dosis 850	0,11	0,12
Dosis 1000	0,12	0,12

Keterangan: Nilai Normal Bilirubin Total = 0,1 – 0,5 mg/dl

Uji Toksisitas Subkronis adalah pengujian untuk menilai efek toksik suatu zat, pengujian ini dengan pemberian berulang dalam jangka waktu 28 hingga 90 hari yang hasilnya digunakan untuk mengidentifikasi efek dan organ target yang terpengaruh (BPOM, 2022)

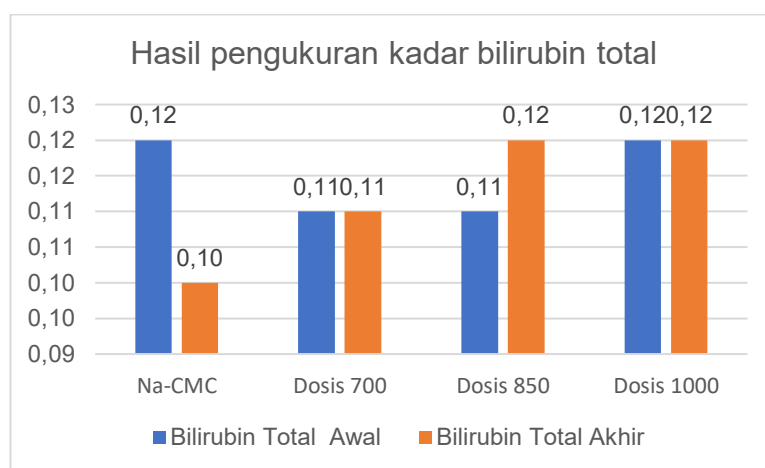
Bilirubin merupakan suatu pigmen berwarna kuning yang berasal dari unsur porfirin dalam hemoglobin. Bilirubin merupakan produk dari penghancur sel darah merah oleh sel-sel retikuloendotel.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek toksisitas ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan melihat efek toksik yang ditimbulkan dengan parameter peningkatan kadar bilirubin Total.

Berdasarkan dari tabel 1. Hasil Rendamen Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) diatas, hasil dari rendamen ekstrak etanol biji alpukat sebesar 9,02 % dari berat simplisia yang diperoleh sebanyak 4000 g dan diperoleh ekstrak kental dari hasil ekstraksi maserasi sebanyak 360,88 g. hasil perhitungan rendamen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama

proses ekstraksi. Perhitungan rendamen ekstrak dikatakan baik apabila nilai rendamen ekstrak yang diperoleh lebih dari 10%

Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata jumlah nilai kadar bilirubin total awal dan kadar bilirubin total akhir pada tabel (3) ekstrak etanol biji alpukat pada kelompok kontrol negatif (Na-CMC 1%) menurun dari 0,12 mg/dL menjadi 0,10 mg/dL setelah perlakuan selama 28 hari, pada kelompok dosis 700 mg/kg BB, kadar bilirubin tetap stabil yaitu 0,11 mg/dL, pada kelompok dosis 850 mg/kg BB menunjukkan sedikit peningkatan dari 0,11 mg/dL menjadi 0,12 mg/dL, sementara itu kelompok dosis tertinggi menunjukkan kadar bilirubin yang stabil di 0,12 mg/dL yang menunjukkan tidak terjadi peningkatan kadar bilirubin total pada dosis 1000 mg/kg BB. Adapun hasil pengukuran kadar bilirubin total sebelum perlakuan dan setelah perlakuan terdapat pada **Gambar 1**.



**Gambar 1. Hasil Pengukuran kadar Bilirubin Total**

Data dari hasil pengukuran kadar bilirubin total dilanjutkan analisis data menggunakan uji statistik (*Paired T-Test*) diperoleh hasil pengukuran bilirubin total  $p=0,866$  (memiliki nilai  $p > 0,05$ ) yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar bilirubin total awal dan setelah pemerian ekstrak selama 28 hari. Hal ini juga dibuktikan dengan melakukan uji statistik *one-way anova* menunjukkan hasil pengujian kadar bilirubin total pada setiap kelompok (kelompok Na-CMC, 700 mg, 850mg, 1000 mg) tidak berbeda secara signifikan hal tersebut dapat dilihat dari nilai  $p = 0.407 > 0.05$ . yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara perlakuan yang diberikan.

Pada penelitian ini tidak terjadi peningkatan kadar bilirubin total pada sejumlah hewan uji pada saat sebelum dan setelah pemerian ekstrak selama 28 hari yang menunjukkan bahwa zat aktif yang ada pada ekstrak etanol biji alpukat tidak bersifat toksik pada fungsi hati. Hal ini diindikasikan karena adanya senyawa *flafonoid* antioksidan yang dapat mencegah kerusakan hati dengan cara mengikat radikal bebas

sehingga mengurangi efek pada organ hati (Nuripto Ramadhany Fitria et al., 2023). Zat aktif dalam ekstrak etanol biji alpukat terutama kuersetin, yang merupakan golongan flavonoid yang mengandung antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, menghambat atau mencegah oksidasi lipid dengan menangkal zat toksik, radikal bebas dan ion-ion transisi sehingga kuersetin membantu dalam pencegahan penyakit tertentu (Arifin & Ibrahim, 2018) Kelangsungan fungsi sel dipengaruhi oleh keberadaan oksigen dan nutrisi. Akan tetapi oksigen juga memiliki potensi menyebabkan kerusakan sel melalui mekanisme oksidasi. Jika proses oksidasi ini tidak dikendalikan, maka dapat menghasilkan radikal bebas, yaitu molekul yang tidak memiliki electron tidak berpasangan. Keberadaan zat toksik dan radikal bebas dapat memicu kerusakan pada sel dan jaringan hati (Hepar). Dalam kondisi normal hati memiliki sistem pertahanan antioksidan yang cukup kuat sehingga mampu menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan. Namun, apabila terjadi kerusakan hati yang luas organ ini dapat kehilangan fungsinya. Gangguan fungsi hati umumnya ditandai dengan peningkatan kadar bilirubin total, serta serum SGPT dan SGOT (Nida' et al., 2022)

## KESIMPULAN

Berdasarkan data yang ditemukan dalam penelitian ini, dapat dinilai dan disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill) tidak memberikan efek toksisitas subkronis yang signifikan terhadap kadar bilirubin total pada tikus putih. Kesimpulan ini diperkuat dengan tidak ditemukannya selisih yang signifikan secara statistik ditengah-tengah kelompok perlakuan dan kelompok kontrol negatif yang diberi Na-CMC 1%. Untuk penelitian lanjutan, disarankan agar dilakukan pengujian toksisitas subkronis dengan durasi yang lebih panjang, yaitu selama 90 hari, guna memperoleh gambaran yang lebih mendalam mengenai efek jangka panjang dari penggunaan ekstrak biji alpukat. Selain itu, disarankan pula dilakukan pengujian terhadap aktivitas hepatoprotektif ekstrak untuk mengeksplorasi kemampuannya dalam melindungi hati dari zat toksik serta memperkaya pemahaman ilmiah mengenai manfaat farmakologisnya.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung selama proses penelitian ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan Rahmat dan kebaikan untuk kita semua, khususnya untuk keluarga tercinta, sahabat-sahabat dan teman-teman saya, serta seluruh keluarga besar

Program Studi Farmasi Universitas Islam Makassar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alim, N., Hasan, T., Rusman, & Jasmiadi. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Asal Enrekang Sulawesi Selatan Dengan Metode DPPH. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Terapan (Sinta) Vi*.
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid Structure, Bioactivity And Antioxidan Of Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29.
- BPOM. (2022). *Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022 Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praliniik Secara In Vivo*.
- Faradiba, Z. S., Abidin, Z., & Wati, A. (2023). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Secara In Vitro Dengan Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, 1(2), 2023–2057. <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mpsj>
- Hairunnisa. (2019). Sulitnya Menemukan Obat Baru di Indonesia. *Majalah Farmasetika*, 4.
- Marlinda, M., Sangi, M. S., & Wuntu, A. D. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1(1), 24–28. <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo>
- Nida', H. K., Sjaokoer, N. A. A., & Mubarakati, N. J. (2022). Uji Toksisitas Subkronik 28 Hari Ekstrak Metanolik kombinasi Daun Benalu Teh dan Benalu Mangga terhadap fungsi Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 7(2), 15–26. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.355>
- Nuripto Ramadhany Fitria, Zain Nuryadin Dichy, & Rahmawati. (2023). Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Batang Ashitaba (*Angelica keiskei*) Terhadap Tikus Jantan Putih Galur Wistar Yang Di Induksi Parasetamol. *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Penelitian Volume 3*.
- Patala, R., Dewi, N. P., & Pasaribu, M. H. (2020). Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus Novergicus*) Model Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 6(1), 7–13. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2020.v6.i1.13929>
- Usman, S., Kunci, K., & Takokak, B. (2019). Uji Efek Hepatotoksik Ekstrak Etanol Buah Takokak (*Solanum torvum* Swartz) Dengan Parameter Bilirubin Darah Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Majalah Farmasi Nasional*.