PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT *(PERSEA AMERICANA MILL)* TERHADAP JUMLAH SEL NEKROSIS DAN SEL *POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE* (PMN) PADA PANKREAS TIKUS (*RATTUS NOVERGICUS*) YANG DIINDUKSI DIET HIPERKOLESTEROL

Karya Tulis Ilmiah

untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

Program Studi Kedokteran
Program Sarjana

oleh:

Gusta Nariski
17711189

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021

THE EFFECT OF AVOCADO JUICE (PERSEA AMERICANA MILL) ON AMOUNT NECROSIS CELL AND POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE (PMN) OF PANCREATIC RATS (RATTUS NOVERGICUS) INDUCED BY HYPERCHOLESTEROL DIET

Scientific Writing

as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine

by:

Gusta Nariski
17711189

FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2021

HALAMAN PENGESAHAN

PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT *(PERSEA AMERICANA MILL*) TERHADAP JUMLAH SEL NEKROSIS DAN SEL *POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE* (PMN) PADA PANKREAS TIKUS (*RATTUS NOVERGICUS*) YANG DIINDUKSI DIET HIPERKOLESTEROL

Karya Tulis Ilmiah

Disusun dan diajukan oleh:

Gusta Nariski
17711189

Telah diseminarkan tanggal: 20 Januari 2021
dan telah disetujui oleh

Penguji	Pembimbing
dr. Roknima Lusiantari, M.Sc	dr. Miranti Dewi Pramaningtyas, M.Sc
NIK 097110419	NIK 097110101

Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana

dr. Umatul Khoiriyah, M. Med.Ed., Ph.D.
NIK 047110101

Disahkan
Dekan

dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK(K)
NIK 017110102

PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrohiim

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya:

Nama	: Gusta Nariski
NIM	: 17711189
Judul KTI	: Pengaruh Pemberian Jus Alpukat *(Persea americana Mill*) Terhadap Jumlah Sel Nekrosis dan Sel *Polymorphonuclear Leukocyte* (PMN) pada Pankreas Tikus (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi Diet Hiperkolesterol
Dosen Pembimbing	: dr. Miranti Dewi Pramaningtyas, M.Sc

Dengan ini menyatakan bahwa:

Memberikan Ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII, berupa:

- ~~Laporan KTI (full text)~~
- Abstrak saja

(coret yang tidak diperlukan)

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 24 Januari 2020

Dosen Pembimbing	Yang Menyatakan
dr. Miranti Dewi Pramaningtyas, M.Sc	Gusta Nariski
NIK 097110101	NIM 17711189

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL (BAHASA INDONESIA) i
HALAMAN JUDUL (BAHASA INGGRIS) ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI iv
DAFTAR ISI v
DAFTAR TABEL vii
DAFTAR GAMBAR viii
DAFTAR LAMPIRAN ix
HALAMAN PERNYATAAN x
KATA PENGANTAR xi
INTISARI xiii
ABSTRACT xiv
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang Masalah 1
1.2 Perumusan Masalah 3
1.3 Tujuan Penelitian 3
1.4 Keaslian Penelitian 4
1.5 Manfaat Penelitian 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6
2.1 Telaah Pustaka 6
2.1.1 Kolesterol 6
2.1.2 Hiperkolesterolemia 8
2.1.3 Pankreatitis Akut 10
2.1.4 Alpukat 13
2.2 Kerangka Teori 16
2.3 Kerangka Konsep 17
2.4 Hipotesis 17
BAB III METODE PENELITIAN 18
3.1 Jenis dan Desain Penelitian 18
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian 18
3.3 Subyek Penelitian 18
3.3.1 Populasi Penelitian 18
3.3.2 Subyek Penelitian 18
3.3.3 Besar Sampel 19
3.3.4 Teknik Pengambilan Sampel 19
3.4 Variabel Penelitian 20
3.4.1 Variabel Bebas 20
3.4.2 Variabel Terikat 20
3.5 Definisi Operasional 20
3.5.1 Minuman Jus Alpukat 20
3.5.2 Diet Hiperkolesterolemia 20
3.5.3 Sel Nekrosis 20
3.5.4 Sel PMN 20
3.6 Instrumen Penelitian 21
3.6.1 Alat Penelitian 21
3.6.2 Bahan Penelitian 21
3.7 Alur Penelitian 21
3.7.1 Persiapan Hewan Coba 21

3.7.2 Induksi Diet Hiperkolesterol 22
3.7.3 Pengambilan Sampel Darah Pasca Induksi Diet Hiperkolesterol ... 22
3.7.4 Pembuatan Jus Alpukat 23
3.7.5 Terminasi Hewan Uji 23
3.7.6 Pembuatan Preparat Biologis Pankreas 23
3.7.7 Analisis Sel Nekrosis dan Sel PMN 24
3.8 Analisis Data 24
3.9 Etika Penelitian 24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 25
4.1 Hasil 25
4.1.1 Hasil Pemeriksaan Jumlah Sel Nekrosis Dan Sel PMN 25
4.1.2 Hasil Analisa Data 27
4.2 Pembahasan 28
BAB V SIMPULAN DAN SARAN 32
5.1 Kesimpulan 32
5.2 Saran 32
DAFTAR PUSTAKA 33
LAMPIRAN 37

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Keaslian Penelitian 4
Tabel 2 Komposisi Nutrisi dalam 100 gram Alpukat 14
Tabel 3 Perbandingan Jumlah Sel Nekrosis dan Sel PMN 26
Tabel 4 Hasil Analisis Uji *post hoc Mann-Whitney* pada Sel Nekrosis 26

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Histopatologis Pankreatitis 12
Gambar 2 Manfaat Alpukat 13
Gambar 3 Kerangka Teori 16
Gambar 4 Kerangka Konsep 17
Gambar 5 Rancangan Perlakuan Hewan Coba 21
Gambar 6 Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus 27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Keterangan Lolos Kaji Etik 37
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian..... 38
Lampiran 3 Pembuatan Preparat 39
Lampiran 4 Bacaan Preparat 40
Lampiran 5 Hasil Analisis data..... 41

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 20 Januari 2021

Gusta Nariski
17711189

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahi rabbil 'alamin, puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan rezeki yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan baik. Rasa syukur yang sebesar-besarnya atas nikmat yang telah Allah SWT berikan kepada penulis.

Shalawat dan salam dihadiahkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah membawa manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang terang benderang yakni Islam. Semoga penulis dan pembaca termasuk ke dalam golongan orang-orang yang mendapatkan syafaat beliau di hari akhir kelak.

Karya Tulis Ilmiah yang berjudul " Pengaruh Pemberian Jus Alpukat *(Persea americana Mill*) Terhadap Jumlah Sel Nekrosis dan Sel *Polymorphonuclear Leukocyte* (PMN) pada Pankreas Tikus (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Diet Hiperkolesterol" disusun sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Kedokteran, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia.

Dalam penulisan Karya Tulis Ilmiah ini tidak luput dari bantuan, bimbingan, dan dukungan berbagai pihak. Berkat dukungan dari berbagai pihak tersebut, penulis dapat melewati rintangan dan hambatan selama menulis karya tulis ini serta menjalani penelitian. Penghargaan dan terima kasih penulis haturkan kepada seluruh pihak yang telah membantu secara langung dan tidak langsung, khususnya kepada:

1. Kedua orang tua penulis yaitu Ibu Jurina. AR dan Bapak Ansari, serta adik-adik penulis yaitu Aura Dewi Nova, Fatma Pratiwi, Fiqih Muhammad Akbar, dan Albasith Musalim Akbar yang selalu memberikan dukungan dan do'a kepada penulis.
2. Fathul Wahid, S.T.,M.Sc., Ph. D. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
3. dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp. PK(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
4. dr. Ummatul Khoiriyah, M. Med. Ed., Ph. D selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
5. dr. Miranti Dewi Pramaningtyas, M.Sc selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan dukungan kepada penulis dalam penulisan karya tulis ilmiah ini dan selama proses penelitian.
6. dr. Rokhima Lusiantari, M.Sc selaku Dosen Penguji yang telah memberikan arahan dan saran dalam pembentukan karya tulis ini.
7. dr. Yayuk Fathonah, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungan dalam penulisan karya tulis ini.
8. Dosen dan Staff Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang selama ini telah memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh kuliah S1 Kedokteran.
9. Bapak Angkit dan Ibu Sri serta para laboran Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah membantu dalam pembuatan preparat histopatologi pankreas tikus.
10. dr. Fi'ila Sari Residen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam pembacaan preparat histopatologi pankreas tikus.
11. Seluruh anggota penelitian Hibah "Pengaruh Pemberian Buah Alpukat pada Kadar Kolesterol Tikus Model Hiperkolesterolemia" yaitu Luthfi

Adnan, Hilmi Ardian Sudarto, Dimas Agus Cholili, Amalia Adiningtyas, dan teman-teman lainnya.

12. Mba Ernadita selaku Laboran Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan arahan dan bantuan selama berlangsungnya penelitian.
13. Seluruh keluarga besar Arifin yang selalu memberikan do'a, dukungan, dan semangat kepada penulis.
14. Alma Natasya, Iin Risma, Rahmita Adhalina, Luthfia Dimitri Bahtiar, Nida Zahrotun Nazihah, dan Annisa Sofiana selaku sahabat penulis yang selalu memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis.
15. Putri Dewi Susanti, Hellen Fiani, Ayu Ruanda, Pipin Sulastri, Sulastri, dan Amilla Andriyani selaku sahabat penulis yang telah memberikan dukungan, saran, dan semangat dalam menyusun karya tulis ini.
16. Anisah, Shakilla Mirna Wati, Susanti, dan Wiwis Mala Sari sebagai sahabat penulis yang selalu mendo'akan dan mendukung penulis.
17. Teman-teman di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia terkhusus Angkatan 2017 Dhaktarka Arvesty yang memberikan dukungan dan do'a kepada penulis.
18. Teman-teman SMAN 1 Palmatak khususnya kelas XII IPA 1 yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
19. Teman-teman CMIA dan SMART yang telah memberikan dukungan kepada penulis.
20. Do Kyungsoo, Oh Sehun, Kim Joonmyeon, Byun Baekhyun, Park Chanyeol, Kim Minseok, Kim Jongdae, Zhang Yixing, dan Kim Jongin sebagai *member* EXO yang sudah memberikan motivasi dan dukungan selama ini.
21. Lee Donghyuck, Lee Taeyong, Moon Taeil, Johnny Suh, Nakamoto Yuta, Qian Kun, Kim Dongyoung, Ten, Jung Jaehyun, Dong Sicheng, Kim Jungwoo, Huang Xuxi, Mark Lee, Xiao Dejun, Huang Guanheng, Huang Renjun, Lee Jeno, Na Jaemin, Liu Yangyang, Zhong Chenle, Park Jisung, Shotaro, dan Jung Sungchan sebagai *member* NCT yang sudah memberikan dukungan, motivasi, dan semangat kepada penulis.
22. Seluruh pihak yang selalu memberikan dukungan dan do'a kepada penulis baik dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, dalam proses penelitian, maupun dalam kehidupan sehari-hari.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih jauh dari kata sempurna dan masih terdapat banyak kekurangan. Sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar dapat memperbaiki segala kekurangan yang ada. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi semua yang membacanya.

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 20 Januari 2021

Gusta Nariski
17711189

PENGARUH PEMBERIAN JUS ALPUKAT *(PERSEA AMERICANA MILL)* TERHADAP JUMLAH SEL NEKROSIS DAN SEL *POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE* (PMN) PADA PANKREAS TIKUS (*RATTUS NOVERGICUS*) YANG DIINDUKSI DIET HIPERKOLESTEROL

Gusta Nariski[1], Miranti Dewi Pramaningtyas[2], Rokhima Lusiantari[3]
[1] Mahasiswa Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
[2] Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
[3] Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Indonesia
Email: [1]gustanariski23akbar@gmail.com

INTISARI

Latar Belakang: Hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor risiko pankreatitis akut. Alpukat merupakan buah dengan kandungan antioksidan tinggi dan mudah diperoleh masyarakat umum. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian jus alpukat terhadap jumlah sel nekrosis dan sel PMN pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol.

Metode: Penelitian ini menggunakan *posttest only with control group design*. Penelitian menggunakan bahan biologi tersimpan pankreas tikus. Kelompok tikus dibagi dalam 5 kelompok (K1, K2, P1, P2, P3). Empat kelompok (K1, P1, P2, P3) diinduksi diet hiperkolesterol selama 4 minggu dengan kuning telur puyuh sebanyak 5 mL sedangkan kelompok K2 hanya diberi pakan tikus BR-II. Kemudian kelompok P1, P2, P3 diberi jus alpukat sebanyak 2,3,4 mL selama 4 minggu. Selanjutnya tikus diterminasi untuk diambil organnya. Pankreas disimpan dalam formalin 10% dan dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE). Analisis data menggunakan Uji *Kruskal-Wallis*.

Hasil: Berdasarkan uji *Kruskal Wallis* didapatkan perbedaan signifikan ($p<0.05$) pada sel nekrosis dengan nilai $p=0.021$, namun tidak signifikan ($p>0.05$) pada sel PMN dengan nilai $p=0.333$.

Kesimpulan: Pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*) memiliki pengaruh signifikan terhadap perbedaan jumlah sel nekrosis, tetapi tidak signifikan pada sel PMN pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol.

Kata Kunci: Jus alpukat, sel PMN, sel nekrosis, hiperkolesterol

THE EFFECT OF AVOCADO JUICE (PERSEA AMERICANA MILL) ON AMOUNT NECROSIS CELL AND POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTE (PMN) OF PANCREATIC RATS (RATTUS NOVERGICUS) INDUCED BY HYPERCHOLESTEROL DIET

Gusta Nariski[1], Miranti Dewi Pramaningtyas[2], Rokhima Lusiantari[3]
[1]Medical Student, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia
[2] Departement of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia
[3] Departement of Physiology, Faculty of Medicine, Universitas Islam Indonesia
Email: [1]gustanariski23akbar@gmail.com

ABSTRACT

Background: *Hypercholesterolemia is a risk factor for acute pancreatitis. Avocado is a fruit with high antioxidant content and is easily available to the general public. The purpose of this study was to determine the effect of avocado juice on the number of necrosis cells and PMN cells of the pancreas of rats induced by a hypercholesterol diet.*

Method: *This study used posttest only with a control group design. The research used biological material stored in the rat pancreas. The rats were divided into 5 groups (K1, K2, P1, P2, P3). Four groups (K1, P1, P2, P3) were induced by hypercholesterol food for 4 weeks with 5 mL of quail egg yolk, while group K2 was given only BR-II rat feed. Then groups P1, P2, P3 were given avocado juice as much as 2,3,4 mL for 4 weeks. Furthermore, the rats were terminated to take their organs. The pancreas was stored in 10% formalin and made histopathological preparations stained with Hematoxylin Eosin (HE). Data analysis used the Kruskal-Wallis test.*

Result: *Based on the Kruskal Wallis test, there was a significant difference ($p<0.05$) in necrotic cells with a value of $p=0.021$, but not significant ($p>0.05$) in PMN cells with a value of $p=0.333$.*

Conclusion: *The effect of avocado juice (Persea americana Mill) had a significant effect on the difference in the number of necrosis cells, but it was not significant for the PMN cells of the rat pancreas induced by a hypercholesterol diet.*

Keywords: *Avocado juice, PMN cell, necrosis cell, hypercholesterol*

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Hiperkolesterolemia dapat meningkatkan risiko penyakit jantung dan *stroke*. Secara global, sepertiga penyakit jantung iskemik disebabkan oleh hiperkolesterolemia. Secara keseluruhan, peningkatan kadar kolesterol diperkirakan menyebabkan 2,6 juta kematian (4,5% dari total kematian). Peningkatan kolesterol total merupakan penyebab utama beban penyakit di negara maju dan berkembang sebagai faktor risiko penyakit jantung dan *ischemia stroke* (WHO, 2008).

Penyebab utama hiperkolesterolemia adalah perilaku gaya hidup. Faktor risikonya terutama berasal dari pola makan yang buruk. Pola makan tersebut berupa perilaku konsumsi lemak >40% dari total kalori, asupan lemak jenuh >10% dari total kalori, dan asupan kolesterol >300 mg per hari (Onwe *et al.,* 2015).

Proporsi nasional penduduk Indonesia dengan perilaku konsumsi makanan berlemak dan berkolesterol sebanyak ≥1 kali per hari yaitu terdapat sejumlah 40,7%. Lima provinsi tertinggi di atas rerata nasional dengan perilaku konsumsi makanan berlemak dan berkolesterol adalah Jawa Tengah (60,3%), DI Yogyakarta (50,7%), Jawa Barat (50,1%), Jawa Timur (49,5%), dan Banten (48,8%) (Kemenkes RI, 2013).

Kadar kolesterol darah yang tinggi dapat diturunkan dengan melakukan terapi farmakologis dan nonfarmakologis. Salah satu pencegahan terhadap peningkatan kadar kolesterol yaitu dapat dilakukan dengan cara mengkonsumsi buah dan sayuran yang memiliki agen penurun dan pencegah peningkatan kadar kolesterol. Sehingga diharapkan dapat menurunkan terjadinya hiperkolesterolemia dan dapat menurunkan risiko akibat hiperkolesterolemia (Wardani, 2014).

Pengobatan hiperkolesterolemia dan kardiovaskular menggunakan tanaman obat telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Alasan meningkatnya pemanfaatan obat-obatan herbal ini karena biaya yang relatif rendah dibandingkan dengan obat-obatan ortodoks, ketersediaan tanaman obat yang ada disekitar lingkungan hidup sehari-hari, dan khasiat yang dihasilkan dari tanaman obat yang memberikan banyak peningkatan dalam manfaatnya untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit (Ramos *et al.,* 2012).

Indonesia adalah negara yang kaya dengan bahan alam terutama tumbuhan yang berpotensi besar untuk dimanfaatkan dan dikembangkan secara maksimal. Perubahan sikap kembali ke alam (*back to nature*) menjadikan pemanfaatan tanaman obat semakin meningkat (Rahman, 2016).

Pencegahan utama pada hiperkolestrolemia biasanya dapat dikontrol dengan diet yaitu dengan cara latihan mengurangi kadar kolesterol yang dikonsumsi sehari-hari, olahraga teratur, dan dapat menggunakan pengobatan secara alternatif. Pengobatan alami dari buah-buahan yang dapat mengatasi masalah tersebut salah satunya yaitu dengan memanfaatkan buah alpukat (Wijayanti *et al.,* 2014).

Buah alpukat (*Persea americana mill*) merupakan salah satu buah-buahan yang mempunyai kadar lemak yang tinggi. Lemak Alpukat (*Persea americana mill*) termasuk lemak yang didominasi oleh *monounsaturated fatty acid* (MUFA) atau asam lemak tak jenuh tunggal yaitu asam oleat yang terkenal dengan omega 9 yang bersifat sebagai antioksidan kuat. Alpukat juga memiliki kandungan vitamin A, vitamin C, dan vitamin E (antioksidan), vitamin B3 (Niasin), vitamin B5 (asam pantotenat), beta sitosterol, dan selenium yang merupakan *hypolipidemic agent*. Aktivitas *hypolipidemic agent* telah terbukti dapat menurunkan risiko *metabolic syndrome* (Wardani, 2014; Tabeshpour *et al.,* 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralisir *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan cara mendonorkan elektronnya yang disebut dengan reduktan. Antioksidan juga mampu menginhibisi reaksi oksidasi pada LDL. Sehingga omega 9 yang merupakan antioksidan kuat dapat menurunkan kadar kolesterol total dalam darah (Winarsi, 2007; (Wardani, 2014).

Penurunan kadar kolesterol berlebih perlu dilakukan karena hiperkolesterolemia berkontribusi terhadap peningkatan morbiditas dan mortalitas pada pasien dengan Penyakit Jantung Koroner (PJK). Hiperkolesterolemia juga dapat menyebabkan *atherosclerosis*, Diabetes Melitus (DM), *liver disease*, *renal disease,* dan pankreatitis akut (Stapleton *et al.,* 2010).

Pankreatitis akut merupakan peradangan akut yang bersifat non-bakterial pada pankreas yang terjadi akibat adanya autodigesti pankreas. Pankreatitis akut yaitu berupa inflamasi pada pankreas yang berlangsung secara akut (onset tiba-tiba, durasi kurang dari 6 bulan) atau akut berulang (>1 stadium pankreatitis akut sampai kronik dengan durasi lebih dari 6 bulan) (Cahyono, 2014; Pratama, 2016).

Secara global, insidensi pankreatitis akut terjadi sekitar 5-80 per 100.000 populasi. Di Jerman, insidensi pankreatitis akut yaitu sebanyak 17,5 kasus per 100.000 orang. Di Finlandia, 73,4 kasus terjadi per 100.000 orang, dan insidensi yang sama juga dilaporkan terjadi di Australia. Data insidensi penyakit pankreatitis akut di luar Amerika utara, Eropa, dan Australia masih sangat terbatas karena belum banyak penelitian yang membahas terkait penyakit pankreatitis akut (Pratama, 2016).

Salah satu penyakit yang dapat ditimbulkan hiperkolesterolemia adalah pankreatitis akut. Penyakit pankratitis akut merupakan suatu penyakit yang memiliki dampak serius bagi kesehatan tubuh. Buah alpukat memiliki kandungan yang sangat kaya akan zat yang berperan sebagai agen hipolipidemik dan berbagai macam zat antioksidan kuat. Tanaman alpukat juga banyak dikembangkan di Indonesia sehingga sangat mudah ditemukan. Pengolahan daging buah alpukat yang dilakukan pada penelitian adalah dalam bentuk jus. Hal ini dilakukan untuk memudahkan masyarakat luas dalam mengkonsumsi daging buah alpukat sehingga diharapkan jus alpukat dapat membantu menurunkan risiko penyakit metabolik bagi masyarakat. Maka dari itu, peneliti ingin melanjutkan penelitian terkait pemanfaatan buah alpukat untuk melihat perbedaan jumlah sel nekrosis dan infiltrasi sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol setelah pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*).

1.2 Perumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan jumlah sel nekrosis dan infiltrasi sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol setelah pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui perbedaan jumlah sel nekrosis dan infiltrasi sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol setelah pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*).

1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

Judul Penelitian (Nama Penulis, Tahun)	Persamaan Penelitian	Perbedaan Penelitian
Mitochondrial Dysfunction, Through Impaired Autophagy, Leads to Endoplasmic Reticulum Stress, Deregulated Lipid Metabolism, and Pancreatitis in Animal Models (Gyorgy Biczo *et al*., 2018)	Meneliti pada tikus yang diinduksi hiperkolesterolemia dan mengevaluasi histopatologi pankreas.	Pada penelitian sebelumnya hal yang dievaluasi adalah disfungsi mitokondria, gangguan autofagi, stress retikulum endoplasma, dan deregulasi metabolisme lipid.
Relationship between Plasma Triglyceride Level and Severity of Hypertriglyceridemic Pancreatitis (Wang Sheng Huei *et al*., 2016).	Meneliti terkait pengaruh lemak terhadap pankreatitis.	Pada penelitian sebelumnya lemak yang diteliti adalah trigliserida.
Effects of Avocado (Persea Americana) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic Review (Tabeshpour Jamshid *et al*., 2017).	Meneliti tentang pengaruh alpukat terhadap kadar kolesterol.	Pada penelitian sebelumnya meneliti tentang pengaruh kulit, biji, daun, dan daging buah alpukat terhadap sindrom metabolik.
Pengaruh Pemberian Jus Persea Americana Mill. Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia (Anggraheny dan Suhardjono, 2007)	Meneliti tentang pengaruh diet alpukat berbagai dosis pada tikus jantan galur wistar	Pada penelitian sebelumnya meneliti pengaruh konsumsi alpukat terhadap kadar profil lipid serum.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi peneliti

1.5.1.1 Menambah wawasan dan pemahaman mengenai perbedaan jumlah sel nekrosis dan infiltrasi sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol setelah pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*).

1.5.1.2 Menambah kemampuan peneliti untuk membuat penelitian berikutnya.

1.5.2 Bagi ilmu pengetahuan

1.5.2.1 Menambah pengetahuan dalam penelitian terkait pemanfaatan alpukat (*Persea americana Mill*).

1.5.3 Bagi masyarakat

1.5.3.1 Menambah penemuan tanaman obat yang dapat digunakan sebagai *hypolipidemic agent* yaitu alpukat (*Persea americana Mill*).

1.5.4 Bagi fakultas

1.5.4.1 Memberikan Informasi terkait mengenai perbedaan jumlah sel nekrosis dan infiltrasi sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol setelah pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*).

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Kolesterol

Kolesterol adalah molekul lipofilik dan diangkut melalui darah dalam bentuk lipoprotein. Jenis lipoprotein ditentukan berdasarkan densitas apung dan komposisi apoproteinnya yang berperan sebagai pelapis emulsi. Terdapat tiga jenis kolesterol di dalam darah, yaitu kolesterol jenis *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), dan trigliserida (Wulp *et al.,* 2013).

Kolesterol merupakan zat alami dengan sifat fisik berupa lipid tetapi memiliki rumus steroida. Kolesterol merupakan bahan pembangun esensial bagi tubuh yang berperan untuk proses sintesis zat-zat penting seperti membran sel dan bahan isolasi sekitar jaringan neuron, hormon androgen, vitamin D, dan asam empedu. Kolesterol jika dikonsumsi dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan peningkatan kolesterol dalam darah yang disebut hiperkolesterolemia. Kondisi hiperkolesterolemia dalam jangka waktu yang panjang jika tidak ditangani dapat menyebabkan kematian. Kadar kolesterol darah cenderung meningkat pada orang-orang yang obesitas, kurang berolahraga, dan pada perokok (Listiyana *et al.,* 2013; Howles, 2016).

Kolesterol secara normal diproduksi sendiri oleh tubuh dalam jumlah yang tepat. Kolesterol dapat mengalami peningkatan jumlah dalam tubuh karena asupan makanan yang berasal dari lemak hewani seperti daging ayam, usus ayam, telur ayam, burung dara, telur puyuh, daging bebek, telur bebek, daging kambing, daging sapi, sosis daging, babat, ampela, paru, hati, bakso sapi, gajih sapi, susu sapi, ikan air tawar, kepiting, udang, kerang, belut, cumi-cumi, dan sebagainya (Listiyana *et al.,* 2013).

Kolesterol sangat penting dalam proses pembentukan struktur membran sel dan fungsi sel pada vertebrata. Metabolit dari kolesterol seperti *Bile Salts* (BS), hormon steroid dan *oxysterole* berfungsi untuk memenuhi fungsi biologis yang sangat penting bagi tubuh. Sehingga diperlukan regulasi dari homeostasis kolesterol yang memadai karena kolesterol berperan penting bagi tubuh (Howles, 2016; Wulp *et al.,* 2013).

Hepar merupakan organ utama yang berperan dalam pengontrolan dan pemeliharaan terhadap homeostasis dari kolesterol. Hepar memfasilitasi berbagai

proses terkait kolesterol yaitu sebagai tempat klirens *Very low-density lipoprotein* (VLDL) dan mengandung kolesterol sisa yaitu *chylomicron* (CM), proses sintesis kolesterol, proses sintesis dan pengeluaran *high-density lipoprotein* (HDL), pengeluaran kolesterol dan BS menuju empedu, dan terlibat dalam *Reverse Cholesterol Transport* (RCT) (Wulp *et al.,* 2013).

Pengaturan metabolisme kolesterol akan berlangsung secara normal apabila jumlah kolesterol dalam darah mencukupi kebutuhan dan tidak melebihi jumlah normal yang dibutuhkan oleh tubuh. Pada orang dengan obesitas dapat menimbulkan terjadinya gangguan regulasi asam lemak yang akan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar trigliserida dan ester. Orang yang mempunyai berat badan lebih seringkali mempunyai kadar kolesterol darah yang lebih tinggi dibandingkan dengan orang yang berat badannya normal. Peningkatan kolesterol darah juga dapat disebabkan oleh peningkatan kolesterol yang terdapat pada VLDL dan LDL sekunder yang disebabkan karena terjadinya peningkatan trigliserida dalam jumlah yang besar dalam sirkulasi akibat penumpukan lemak berlebih di dalam tubuh (Listiyana *et al.,* 2013).

Kolesterol dikombinasikan dengan protein plasma untuk diangkut dalam bentuk lipoprotein. Kolesterol terutama disintesis di dalam tubuh dan juga dapat berasal dari asupan makanan Kolesterol disintesis dari prekursornya yaitu asetil-KoA melalui jalur metabolisme yang kompleks. Proses sintesis satu molekul kolesterol yang mengandung 27 atom karbon (C) dan 46 atom hidrogen (H) dibuat menggunakan 18 buah unit asetil KoA mengandung 36 atom C. Sebanyak 7 atom H dimasukkan ke dalam molekul kolesterol yang berasal langsung dari air sementara 15 atom lainnya dimasukkan dari *nicotinamide adenine dinucleotide fosfat-oksidase* (NADPH). Atom H dari air juga bisa dimasukkan ke dalam substrat yang kemudian menghasilkan sitosol acetyl CoA yang digunakan untuk biosintesis kolesterol. HMG-CoA reduktase (HMGCR) adalah suatu enzim yang berperan untuk membatasi proses sintesis kolesterol dan mengangkut kolesterol berlebihan dari hepar ke plasma. (Zhang *et al.,* 2016; Wulp *et al.,* 2013).

Kolesterol akan diangkut dari jaringan perifer menuju hepar oleh RCT. Proses ini diikuti oleh eksresi kolesterol melalui empedu menuju usus. Hasil ekresi kolesterol yang terkandung dalam feses yaitu dalam bentuk sterol netral dan BS (Wulp *et al.,* 2013).

2.1.2 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana terdapat peningkatan konsentrasi kolesterol melebihi batas nilai normal yaitu kolesterol total ≥200 mg/dL. Hiperkolesterolemia merupakan kondisi kelebihan kolesterol dalam darah. Terdapat tiga jenis kolesterol di dalam darah, yaitu kolesterol jenis *high density lipoprotein* (HDL), *low density lipoprotein* (LDL), dan trigliserida. HDL merupakan kolesterol yang dapat mencegah terjadinya penyumbatan pembuluh darah, sedangkan LDL dan trigliserida yang tinggi dapat menyebabkan sumbatan pada pembuluh darah. Kadar LDL dianggap tinggi jika kadarnya di atas 130 mg/dL dan trigliserida dianggap tinggi jika kadarnya di atas 150 mg/dL (Koletzko, 2015; Sharma *et al.,* 2018; Guyton, 2016).

Produksi VLDL yang berlebihan akibat diet tinggi kolesterol menyebabkan terjadinya penurunan klirens lipoprotein yang kaya trigliserida (*triglyceride-rich lipoprotein*/TRL) di dalam sirkulasi darah. Peningkatan kadar VLDL dan klirensnya juga menyebabkan peningkatan pertukaran antara kolesterol ester di dalam LDL dan trigliserida di dalam VLDL yang dimediasi oleh *cholesterol ester transfer protein* (CETP). Pertukaran tersebut menyebabkan LDL yang kaya trigliserida mengalami lipolisis yang menghasilkan *small dense LDL*. Partikel-partikel *small dense LDL* dapat memicu timbulnya inflamasi. Partikel *small dense LDL* menyebabkan terbentuknya peningkatan produksi antibodi terhadap *modified ApoB-100* dan pembentukan kompleks imun (Arief *et al.,* 2014).

Hiperkolesterolemia ditandai dengan adanya peningkatan kolesterol plasma. Hal ini terutama berkontribusi terhadap peningkatan morbiditas dan mortalitas pada Penyakit Jantung Koroner (PJK). Kolesterol berperan penting dalam menjaga stabilitas fungsi sel. Kolesterol yang berlebihan dapat menyebabkan terbentuknya kristal padat yang mengganggu fungsi normal dari membran sel. Selain itu, deposit kolesterol yang berlebih dapat menumpuk di dalam dinding arteri yang berkontribusi dalam terjadinya aterosklerosis (Stapleton *et al.,* 2010; Zhang *et al.,* 2016).

Penyebab utama hiperkolesterolemia adalah kebiasaan gaya hidup di mana faktor risikonya terutama berasal dari pola makan yang buruk yaitu perilaku konsumsi lemak >40% dari total kalori, asupan lemak jenuh >10% dari total kalori dan asupan kolesterol >300 mg per hari (Onwe *et al.,* 2015).

Salah satu hal yang memainkan peran penting dalam mengatur homeostasis kolesterol plasma yaitu adalah RCT. Kolesterol dari jaringan perifer diangkut ke hepar dan diubah menjadi asam empedu yang banyak digunakan dalam sirkulasi enterohepatik oleh RCT. Hal yang paling penting dari RCT adalah pelepasan kolesterol dari sel dan reduksi kolesterol seluler. RCT juga berperan terhadap *efflux*, esterifikasi, transportasi dan eliminasi dari kolesterol (Zhang *et al.*, 2016).

Nilai rata-rata kadar kolesterol darah di Indonesia berbeda berdasarkan faktor determinan sosial daerah masing-masing. Rata-rata kadar kolesterol di daerah perkotaan yaitu 212.24 mg/dL secara signifikan lebih tinggi dari pada mereka yang tinggal di daerah perdesaan yaitu 204.71 mg/dL (Hatma, 2007).

Penduduk Indonesia dengan usia ≥15 tahun didapatkan kolesterol total abnormal 35,9%, HDL rendah 22,9%, LDL tidak optimal dengan kategori gabungan *near optimal-borderline* tinggi 60,3% dan kategori tinggi-sangat tinggi 15,9%, trigliserida abnormal dengan kategori *borderline* tinggi 13,0% dan kategori tinggi-sangat tinggi 11,9%, serta kreatinin serum abnormal 6,0% (Kemenkes RI, 2013).

Penilaian kadar kolesterol berdasarkan jenis kelamin dan tempat tinggal didapatkan bahwa proporsi penduduk dengan kadar kolesterol di atas normal pada perempuan lebih tinggi dibandingkan pada laki-laki. Didapatkan data bahwa pada daerah perkotaan lebih tinggi angka penduduk dengan hiperkolesterolemia dibandingkan daerah perdesaan (Kemenkes RI, 2013).

Persentase kolesterol tinggi yang tercatat di Pos Pembinaan Terpadu (Posbindu) Penyakit Tidak Menular (PTM) dan PUSKESMAS yang sudah menggunakan sistem informasi surveilans PTM menurut jenis kelamin, pada laki-laki sebesar 48% sedangkan pada perempuan 54.3%. Data tersebut menunjukkan bahwa insidensi hiperkolesterol lebih tinggi terjadi pada perempuan dibanding laki-laki (Kemenkes RI, 2017).

Terdapat 16% orang dewasa ditemukan memiliki kadar kolesterol total >240 mg/dL. Kadar tersebut merupakan kadar yang dipertimbangkan oleh *American Heart Association* (AHA) yang dapat meningkatkan terjadinya risiko *Cardio Vascular Disease* (CVD) sebanyak dua kali lipat (Stapleton *et al.,* 2010).

2.1.3 Pankreatitis akut

Pankreatitis akut merupakan peradangan akut yang bersifat non-bakterial pada pankreas yang terjadi akibat adanya autodigesti pankreas. Proses autodigesti pankreas dapat dicegah dengan pengemasan protease dalam bentuk prekursor dan dengan adanya sintesis protease inhibitor, seperti *pancreatic secretory trypsin inhibitor* dan *serine protease inhibitor* (SPINK1). Selain itu, pH asam dan kandungan rendah kalsium dalam granula zimogen menjaga proenzim tetap dalam keadaan *premature*. Apabila ada gangguan dari sistem inhibitor diatas, maka akan terjadi autodigesti pankreas yang selanjutnya menyebabkan terjadinya pankreatitis akut. Sekresi enzim pankreas dikendalikan oleh *feedback* negatif yang disebabkan oleh adanya aktivasi protease bebas dalam duodenum (Muniraj *et al.*, 2012).

Etiologi yang paling sering menjadi penyebab pada pankreatitis akut adalah akibat terbentuknya batu empedu (40-70%) dan alkohol (25-35%). Pankreatitis karena batu empedu biasanya merupakan kejadian akut dan akan sembuh apabila batu telah disingkirkan atau lepas secara spontan dari duktus bilier. Penyebab lainnya yaitu akibat medikasi seperti *6-mercaptopurine*, *azathioprine*, dan DDI (*2'-,3'-dideoxyinosine*), agen infeksius, hiperkolesterolemia (paling sering hipertrigliserida), hiperkalsemia, hiperparatiroid, trauma tumpul abdomen, dan disfungsi sfingter oddi (Pratama, 2016; Cahyono, 2014; Hegyi *et al.,* 2015).

Patofisiologi pankreatitis akut secara umum belum dapat dijelaskan secara spesifik. Hal ini karena pankreatitis akut akan terjadi jika faktor homeostasis seluler mengalami ketidakseimbangan. Faktor tersebut terdiri dari faktor ekstraseluler dan faktor intraseluler. Faktor ekstraseluler berupa (respons saraf dan vaskuler) dan faktor intraseluler yang mengaktivasi enzim pankreas seperti amilolitik (amilase), lipolitik (lipase, fosfolipase A, dan kolesterol esterase), dan proteolitik (tripsin, kimotripsin, karboksipeptidase, aminopeptidase, dan elastase). Salah satu etiologi yang menyebabkan aktivasi enzim pankreas adalah stimulasi hormon kolesistokinin (CCK) yang dapat diinduksi oleh adanya diet hiperkolesterolemia (Muniraj *et al.,* 2012; Khan, *et al.,* 2013; Cahyono, 2014; Wang *et al.,* 2016; Pan *et al.,* 2017; Biczo *et al.,* 2018).

Patogenesis utama kolesterol menimbulkan pankreatitis akut yaitu dengan terjadinya hidrolisis trigliserida oleh enzim lipase menjadi asam lemak bebas yang

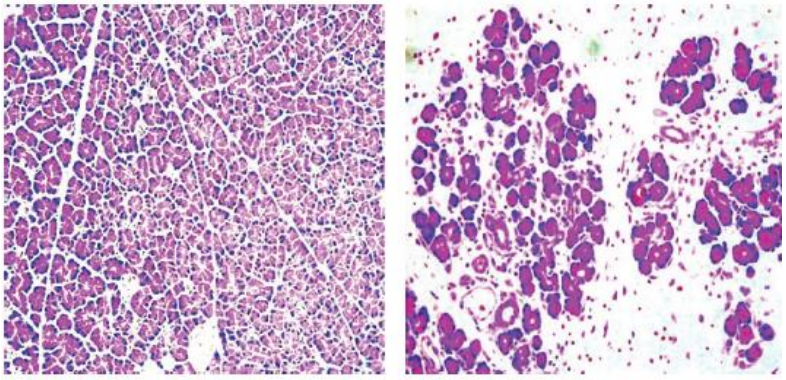
menyebabkan terbentuknya ROS yang selanjutnya merusak sel asinar pankreas. Etiologi mayor dari hidrolisis trigliserida adalah akibat adanya defek primer dalam metabolisme lipoprotein. Penyebab paling umum dari defek primer metabolisme lipoprotein adalah akibat adanya defisiensi apolipoprotein-C2 (apo-C2). Peran apo-C2 adalah sebagai aktivator dari lipoprotein lipase (LPL). Kondisi defisiensi apo-C2 dapat menurunkan aktivitas LPL yang berperan dalam proses kliren kilomikron dari sirkulasi darah. Sehingga kadar trigliserida akan terus meningkat yang menyebabkan produksi ROS penyebab pankreatitis akut terus meningkat (Muniraj *et al.*, 2012).

Kerusakan sel asinar dimulai dari produksi ROS yang terus meningkat, terjadinya aktivasi tripsinogen menjadi tripsin, sekresi vesikel sekretorik dari membran basolateral ke membran interstitial, dan fragmen molekul vesikel sekretorik memulai kerjanya sebagai *chemoattractants* yang menyebabkan infiltrasi makrofag dan neutrofil. Aktivitas mediator inflamasi pada pankreas menimbulkan terbentuknya lingkungan mikro inflamasi lokal pada pankreas (Cahyono, 2014; Pan *et al.,* 2017; Pratama, 2016; Biczo *et al.,* 2018).

Aktivasi neutrofil dapat menyebabkan dilepaskannya enzim proteolitik (katepsin B, D, G, kolagenase, dan elastase). Neutrofil juga memproduksi dan mensekresikan ROS. Jejas sel asinar juga menyebabkan makrofag melepaskan sitokin pro inflamasi yang memediasi timbulnya respon inflamasi lokal pada pankreas (Lerch *et al.,* 2013; Murtaugh *et al.,* 2015; Pratama, 2016).

Mediator awal yang berperan adalah TNF-α, *interleikin-6* (IL-6), dan IL-8. Mediator inflamasi selanjutnya menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas vaskular pankreas. Selanjutnya hal ini dapat menyebabkan terjadinya perdarahan, edema, dan nekrosis (Staubli *et al.,* 2015; Murtaugh *et al.,* 2015; Pratama, 2016).

Pada beberapa kasus pankreatitis akut, awalnya terbentuk edema parenkim dan nekrosis lemak peripankreas yang disebut dengan pankreatitis edema akut. Inflamasi akan membentuk pankreatitis hemoragik atau *necrotizing pancreatitis* saat terjadi nekrosis parenkim yang disertai dengan perdarahan dan disfungsi pada kelenjar (Suharjo, 2014; Bollen, 2016; Pratama, 2016).



Gambar 1. Histopatologis pankreas tikus (pewarnaan HE perbesaran 200x). (a) Morfologi normal (b) Interstisial edema, infiltrasi sel inflamasi, dan sel asinar (Mirmalek *et al.,* 2016)

Manifestasi klinis yang dirasakan pasien dengan pankreatitis akut umumnya mengalami nyeri epigastrium atau pada abdomen kuadran kiri atas. Nyeri yang dirasakan konstan dengan penyebaran ke punggung, dada, atau pinggang. Intensitas nyeri dapat bervariasi, tetapi biasanya dengan intensitas berat (Muniraj *et al.,* 2012; Pratama, 2016).

Berdasarkan klasifikasi Atlanta 2012, komplikasi pankreatitis akut dibagi menjadi komplikasi gagal organ dan sistemik serta komplikasi lokal. Sistem organ yang dinilai terkait dengan gagal organ adalah respirasi, jantung dan ginjal. Komplikasi sistemik dinilai berdasarkan adanya eksaserbasi dari penyakit penyerta yang sudah ada, yaitu penyakit jantung koroner atau penyakit paru obstruktif kronis, yang dipicu oleh pankreatitis akut. Komplikasi lokal secara morfologi pankreatitis akut dibedakan menjadi dua, yaitu pankreatitis edematosa interstisial dan pankreatitis nekrosis (Cahyono, 2014).

Tatalaksana untuk pankreatitis akut dapat diawali dengan terapi suportif yaitu resusitasi cairan, koreksi gangguan elektrolit dan koagulasi, pemberian oksigen, dan ventilasi non-invasif atau invasif. Kemudian lakukan pemeriksaan aspirasi jarum halus yang dipandu dengan USG/CT *scan* untuk membedakan pankreatitis akut steril atau terinfeksi. Jika terinfeksi, berikan antibiotik karbapenem, kuinolon, metronidazole, dan sefalosforin dosis tinggi, atau imipenem. Berdasarkan penelitian, antibiotik yang paling efektif adalah imipenem intravena 0,5g/8 jam. Jika terjadi pankreatitis nekrosis akut terinfeksi atau nekrosis peripankreatik, lakukan *necrosectomy* yang merupakan *gold standart* pada kasus

ini. Terapi nutrisi sebaiknya diberikan secara enteral yaitu melalui *nasojejunum tube* (NJT) atau *nasogastric tube* (NGT) (Pratama, 2016).

2.1.4 Alpukat

Kingdom: Plantae

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliophyta

Ordo: Laurales

Famili: Lauraceae

Genus: *Persea*

Spesies: *Persea americana*

Alpukat (*Persea americana*) merupakan buah yang berasal dari Meksiko, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Buah alpukat telah banyak dibudidayakan sejak 500 SM. Alpukat mulai menyebar ke seluruh dunia pada abad ke-17 oleh pedagang-pedagang Spanyol dan mulai dikembangbiakkan di lingkungan tropis seperti Meksiko, Chile, Brazil dan Indonesia (Fulgoni *et al.,* 2013; Duarte *et al.,* 2017).

Alpukat memiliki kandungan asam lemak jenuh sebanyak 2,13 gram/100 gram. Sedangkan kandungan asam lemak tak jenuh (*Monounsaturated Fatty Acid*) sebanyak 9,8 gram/100 gram. Asam lemak tak jenuh yang paling banyak terdapat dalam alpukat yaitu asam oleat yang merupakan *phytochemical* yang dapat meningkatkan kadar HDL. Alpukat juga mengandung *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) sejumlah 1,82 gram/100 gram (Wardani, 2014).

Gambar 2. Manfaat alpukat. A: daun, B: daging buah, C: minyak, D: kulit, E: biji (Tabeshpour *et al.,* 2017)

Pemberian jus alpukat terbukti dapat menurunkan kadar kolesterol total serum pada tikus yang diinduksi dengan diet hyperlipidemia. Penurunan kadar kolesterol total serum pada pemberian jus alpukat terutama disebabkan karena adanya kandungan *hypolipidemic agent* yaitu asam oleat, asam pantotenat (vitamin B5), beta sitosterol, niasin (vitamin B3), vitamin A, vitamin C, vitamin E, asam amino sistein, selenium, dan serat yang terdapat dalam daging buah alpukat (Anggraheny dan Suhardjono, 2007; Wardani, 2014; Tabeshpour *et al.,* 2017).

Tabel 2. Komposisi Nutrisi dalam 100 gram Alpukat (Weschenfelder *et al.*, 2015)

	Nutrient/Phytochemical	***Value per 100 g***
Proximates	*Water (g)*	72.3
	Energy (Kcal)	167
	Protein (g)	1.96
	Fat (g)	15.4
	Carbohydrate (g)	8.64
	Fiber, total dietary (g)	6.8
	Sugars, total (g)	0.3
Minerals	*Magnesium (mg)*	29
	Phosphorus (mg)	54
	Potassium (mg)	507
	Sodium (mg)	8
	Zinc (mg)	0.68
	Selenium (ug)	0.4
Vitamins/ Phitochemical	*Vitamin C (mg)*	8.8
	Folate, food (µg)	89
	Lutein + zeaxanthin (µg)	271
	Vitamin E (alpha tocopherol) (µg)	1.97
Lipids	*Fatty acids, total saturated (g)*	2.13
	Fatty acids, total monounsaturated (g)	9.8
	Fatty acids, total polyunsaturated (g)	1.82
	Cholesterol (mg)	0

Kandungan pada buah alpukat yaitu MUFA yang berupa asam oleat terbukti tidak dapat memacu sintesis kolesterol dalam tubuh. Karena hal tersebut, kolesterol dalam darah tidak akan meningkat walaupun terdapat peningkatan metabolisme tubuh sehingga lipid yang tersimpan di dalam jaringan adiposa akan mengalami lipolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Hal ini disebabkan karena efek stimulasi eksresi kolesterol ke dalam intestinal, stimulasi kolesterol menjadi asam empedu, dan dengan adanya pergeseran kolesterol dari plasma ke jaringan. Kondisi tersebut terjadi akibat adanya peningkatan laju katabolisme LDL karena

terjadinya penambahan jumlah reseptor LDL. Selain itu, MUFA juga terbukti dapat menghambat kerja *cholesterol ester transfer protein* sehingga membantu akumulasi partikel-partikel HDL. Asam lemak tak jenuh dapat menurunkan kadar LDL, VLDL, trigliserida, kolesterol dalam darah, dan dapat meningkatkan konsentrasi HDL sehingga MUFA mampu menjadi salah satu *hypolipidemic agent* (Labonté *et al.,* 2013; Wardani, 2014; Weschenfelder *et al.,* 2015; Park *et al.,* 2018).

Kandungan *hypopidemic agent* terbanyak yang terkandung dalam alpukat adalah asam pantotenat. Asam pantotenat memiliki efek *antiatherogenic*, antioksidan, radioprotektif, membranoprotektif, dan dapat mencegah gangguan metabolisme lipid. Asam pantotenat di dalam tubuh akan diubah menjadi pantetin. Pembentukan pantetin dibantu oleh asam amino sistein yang merupakan salah satu prekursor pembentuk pantetin. Pantetin telah terbukti secara efisien dapat menurunkan kadar LDL, trigliserida, dan meningkatkan kadar HDL dalam studi klinis. Pantetin berperan sebagai inhibitor lipogenesis dengan cara menghambat enzim HMGCR sehingga kolesterol darah akan menurun. Selain itu, pantetin juga dapat mengoksidasi asam lemak sehingga kadar lemak darah menurun (Bocos *et al.,* 1998; Naruta *et al.,* 2001; Wardani, 2014).

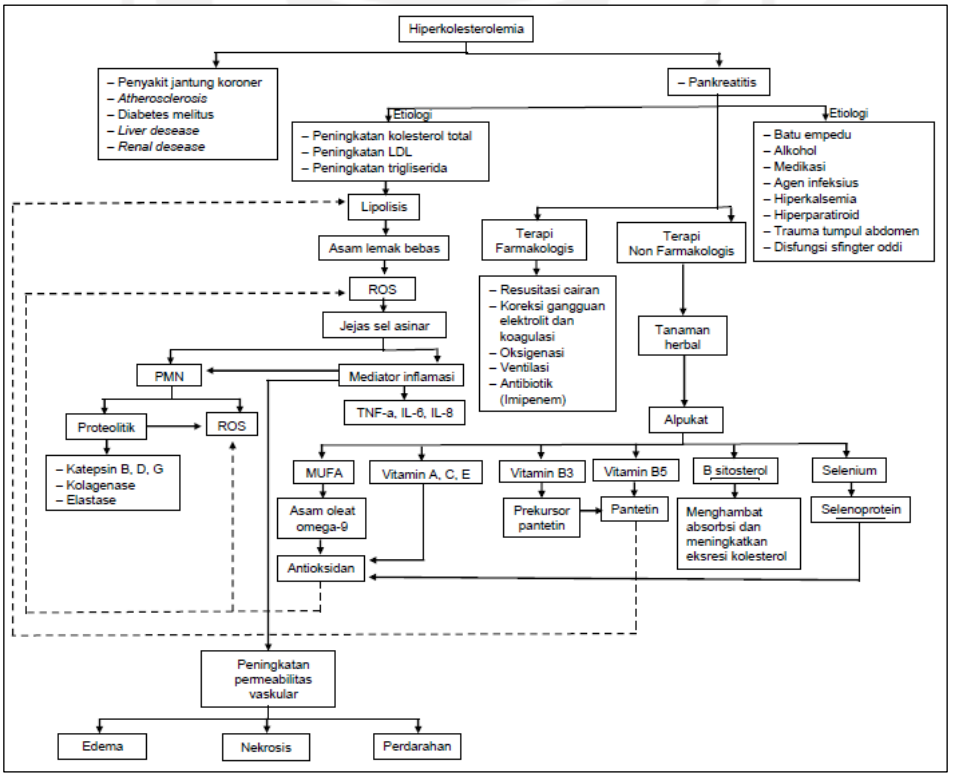
Zat lainnya yang dapat menurunkan kadar kolesterol darah yaitu beta sitosterol. Beta sitosterol terbukti berperan sebagai *hypolipidemic agent* dengan cara menghambat absorbsi kolesterol dan meningkatkan eksresi kolesterol dalam usus sehingga kadar kolesterol dalam darah dapat menurun. Kandungan niasin dalam alpukat juga dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Niasin dapat menghambat sekresi asam lemak dari liposit dan menghambat produksi asam lemak dan trigliserida dalam hepatosit. Niasin juga dapat menurunkan kadar VLDL sehingga terjadi penurunan kadar *Intermediate Density* Lipoprotein (IDL) dan LDL yang selanjutnya akan menyebabkan penurunan kolesterol total serum (Ito, 2004; Chung *et al.,* 2008; Wardani, 2014).

Daging buah alpukat juga mengandung vitamin A, vitamin C, dan vitamin E yang bersifat antioksidan. Aktivitas antioksidan dari vitamin A berasal dari rantai unit hidrofobik poliena yang dapat menetralkan dan menstabilkan radikal bebas. Vitamin C merupakan antioksidan yang berperan sebagai *potent scavenger* radikal bebas yang terdapat dalam plasma sehingga mampu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh ROS. Vitamin C dapat menurunkan

kadar kolesterol dengan cara membantu reaksi hidroksilasi pada sintesis asam empedu. Hal ini yang akan menyebabkan terjadinya peningkatan eksresi kolesterol dan penurunan kadar kolesterol total dalam darah (Grosso *et al.,* 2013; Wardani, 2014; Park *et al.,* 2015; Zalaket *et al.,* 2018).

Kandungan lainnya dalam buah alpukat yang berperan sebagai *hypolipidemic agent* yaitu selenium. Selenium merupakan mineral yang dapat berikatan dengan protein plasma membentuk selenoprotein yang merupakan zat antioksidan yang mampu mencegah proses oksidasi LDL. Dalam alpukat terdapat kandungan serat yang apabila masuk ke dalam intestinal akan dapat mengikat asam empedu yang selanjutnya akan dieksresikan. Selain itu, serat juga dapat membentuk lapisan pada usus halus sehingga terjadi peningkatan viskositas usus halus yang mampu meningkatkan eksresi lipid. Sehingga dengan adanya serat, kadar lipid yang tinggi akan dikeluarkan dari tubuh dengan bantuan serat dalam bentuk feses (Wardani, 2014; Fuller *et al.,* 2016; Wang *et al.,* 2017).

2.2 Kerangka Teori



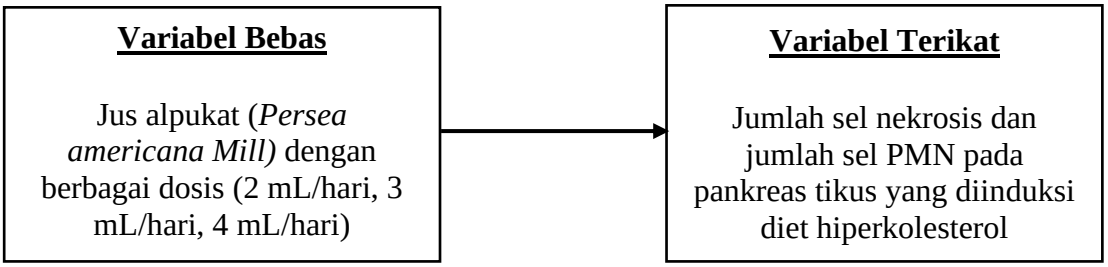
Gambar 3. Kerangka Teori

Keterangan:

→ : Meningkatkan

- - - - → : Menurunkan

2.3 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

Keterangan:

→ : Mempengaruhi secara langsung

2.4 Hipotesis

Terdapat perbedaan jumlah sel nekrosis dan sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN) pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol setelah pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan *posttest only with control group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Untuk mendapatkan hasil dari pengaruh minuman jus alpukat terhadap perbedaan jumlah sel nekrosis dan sel PMN pada gambaran histopatologis pankreas membutuhkan waktu selama 10 bulan, terhitung sejak tikus diberi perlakuan hingga analisis kadar kolesterol, dan evaluasi histopatologis pankreas pada tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur wistar.

3.3 Subyek Penelitian

3.3.1 Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang diperoleh dari Mentik farm di Jalan Kaliurang KM 7,8.

3.3.2 Subyek penelitian

Subyek penelitian dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi:

1. Jenis kelamin jantan.
2. Berat badan 200-300 gram.
3. Sehat yang dilihat dari gerakan yang lincah, struktur anatomi normal, tidak terdapat luka, kulit dan buku halus, mata jernih, serta tidak terdapat *discharge* yang keluar dari tubuhnya.
4. Usia 8-12 minggu.
5. Belum pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya.

b. Kriteria Eklusi:

1. Tikus mengalami perubahan fisik yang dinilai mengalami suatu penyakit.
2. Mati selama masa penelitian.

3.3.3 Besar sampel

Jumlah tikus yang digunakan sebagai subjek menggunakan rumus besar sampel Charan dan Biswas (2013) dengan rumus sebagai berikut:

E (konstanta) = total jumlah hewan – total jumlah kelompok
(10-20 ekor) = total jumlah tikus – 5 kelompok
Total jumlah tikus = 15-25 ekor
Jumlah tikus tiap kelompok = (15-25 ekor) / 5 kelompok
= 3-5 ekor

Dari hasil perhitungan besar sampel diatas, dibutuhkan jumlah sampel minimal 3 ekor tikus untuk setiap kelompok. Penelitian ini membagi tikus dalam 5 kelompok perlakuan, sehingga jumlah total tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 15 ekor tikus.

3.3.4 Teknik pengambilan sampel

Berdasarkan rumus tersebut, jumlah sampel yang digunakan sebanyak 15 ekor tikus. Subjek akan dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus yaitu:

1. Kelompok K1 merupakan kelompok diet tinggi kolesterol yang mendapatkan pakan tikus BR-II dan diberikan kuning telur puyuh 5 ml/hari selama 30 hari (Anggraheny dan Suhardjono, 2007).
2. Kelompok P1 merupakan kelompok yang diinduksi hiperkolesterol dengan kuning telur puyuh sebanyak 5 ml/hari selama 30 hari melalui metode sondase dan mendapatkan pakan tikus BR-II. Setelah 30 hari pemberian kuning telur, tikus kemudian diberi minuman jus alpukat melalui metode sondase sebanyak 2 ml/hari selama 30 hari tanpa diberikan kuning telur secara bersamaan (Anggraheny dan Suhardjono, 2007).
3. Kelompok P2 merupakan kelompok yang diinduksi hiperkolesterol dengan kuning telur puyuh sebanyak 5 ml/hari selama 30 hari melalui metode sondase dan mendapatkan pakan tikus BR-II. Setelah 30 hari pemberian kuning telur, tikus kemudian diberi minuman jus alpukat melalui metode sondase sebanyak 3 ml/hari selama 30 hari tanpa diberikan kuning telur secara bersamaan (Anggraheny dan Suhardjono, 2007).
4. Kelompok P3 merupakan kelompok yang diinduksi hiperkolesterol dengan kuning telur puyuh sebanyak 5 ml/hari selama 30 hari melalui metode sondase dan mendapatkan pakan tikus BR-II. Setelah 30 hari

pemberian kuning telur, kemudian diberi minuman jus alpukat melalui metode sondase sebanyak 4 ml/hari selama 30 hari tanpa diberikan kuning telur secara bersamaan (Anggraheny dan Suhardjono, 2007).

5. Kelompok K2 merupakan kelompok normal yang mendapatkan pakan tikus BR-II (Anggraheny dan Suhardjono, 2007).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis minuman jus alpukat yaitu dosis 2mL/hari, 3mL/hari, dan 4 mL/hari.

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel nekrosis dan sel PMN pada gambaran histopatologis pankreas.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Minuman jus alpukat

Minuman jus alpukat adalah minuman yang terdiri dari daging buah alpukat yang diblender hingga homogen. Jus alpukat dibuat dengan cara memblender daging buah alpukat sebanyak 300 gram yang yang dicampur akuades dengan perbandingan 1:3 kemudian diberikan kepada tikus melalui metode sondetase oral.

3.5.2 Diet hiperkolesterol

Diet hiperkolesterol adalah pemberian kuning telur puyuh yang dikocok hingga homogen. Kuning telur puyuh kemudian diberikan kepada tikus melalui metode sondetase oral.

3.5.3 Sel nekrosis

Sel nekrosis adalah sel yang memiliki ciri-ciri adanya piknosis (inti hiperkromatik dan mengecil), karyorreksis (inti pecah), atau karyolisis (inti menghilang) (Robbins *et al.,* 2007).

3.5.4 Sel PMN

Sel PMN adalah bagian dari leukosit granulosit yang memiliki ciri-ciri granula berwarna ungu dan sitoplasma berwarna merah muda pucat (Riswanto, 2013).

3.6 Instrumen Penelitian

3.6.1 Alat penelitian

Kandang tikus ukuran 30 x 15 x 10 cm^3, spuit injeksi 3mL dan 5mL, botol penyimpanan 200 mL, sonde oral, gelas ukur ukuran 50 mL untuk membuat minuman jus alpukat, dan blender untuk pembuatan jus alpukat.

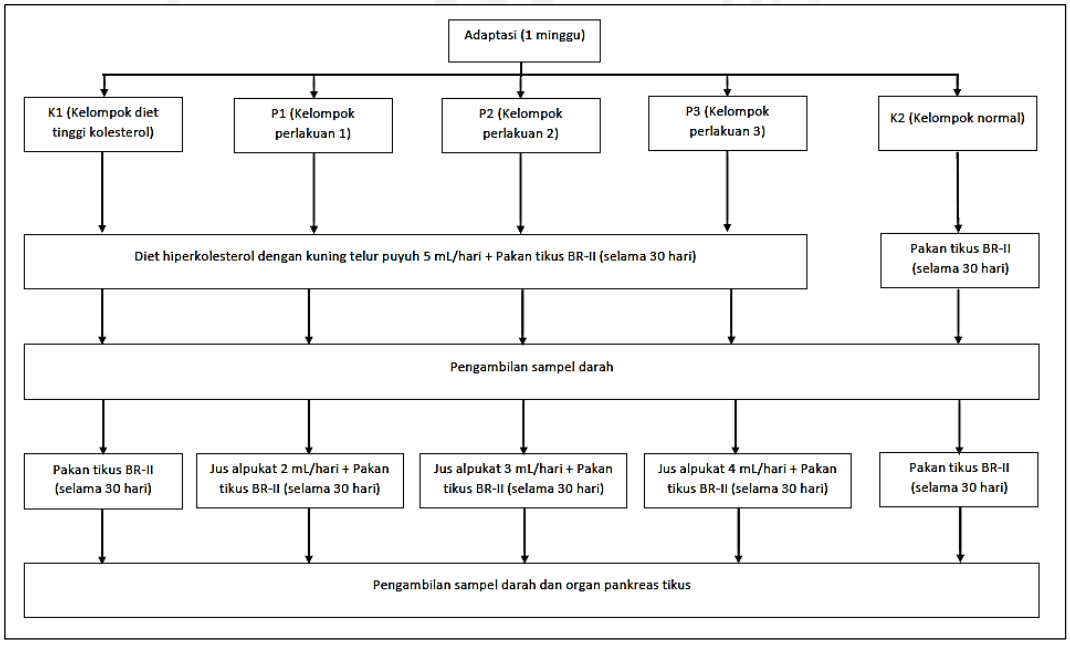
3.6.2 Bahan penelitian

Pakan tikus BR-II dari PT. JAPFA COMFEED Indonesia Tbk, akuades untuk minum tikus, kuning telur puyuh mentah yang diambil dari telur puyuh yang dibeli di Pasar Pakem, Sleman dan buah alpukat mentega yang dibeli dari Toko Alpukat Mentega Jogja Yendry di Jalan Kumendaman Mj2/569, Suryodiningratan, Mantrijeron, Kota Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta.

3.7 Alur Penelitian

3.7.1 Persiapan hewan coba

Tikus sebagai hewan coba didapatkan dari Mentik farm di Jalan Kaliurang KM 7,8. Hewan coba diadaptasi di dalam kandang berukuran 30×15×10 cm^3. Satu kandang diisi dengan satu tikus. Suhu kandang diatur sesuai dengan suhu kamar. Pakan tikus dan air minum diberikan secara *ad libitum*.



Gambar 5. Rancangan Perlakuan Hewan Coba

Sebanyak 15 ekor tikus akan dibiarkan selama 7 hari untuk mengalami proses aklimatisasi. Suhu ruangan pemeliharaan tikus percobaan 26-30°C

dengan kelembapan udara 30-70% dengan ventilasi yang cukup tetapi tidak boleh ada jendela yang terbuka. Cahaya diusahakan agar terdapat 12 jam terang dan 12 jam gelap. Tikus diberi pakan berupa pelet pakan tikus jenis BR-II dengan volume 40 gram per hari per ekor tikus dan diberi akuades sebanyak 50 mL per hari per ekor tikus. Pakan tikus dan akuades diganti setiap harinya pada pagi hari. Kandang tikus dibersihkan setiap dua kali seminggu pada hari kamis dan minggu.

Kelompok K1, P1, P2, dan P3 diberikan diet tinggi kolesterol dengan kuning telur puyuh 5 mL/hari selama 30 hari. Kelompok K2 hanya diberikan pakan tikus BR-II selama 30 hari. Setelah 30 hari, kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3 dilakukan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan profil lipid. Setelah itu, Kelompok K1 dan K2 diberikan pakan tikus BR-II selama 30 hari. Kelompok P1 diberikan jus alpukat 2 mL/hari, P2 diberikan jus alpukat 3 mL/hari, dan P3 diberikan jus alpukat 4 mL/hari. Setelah intervensi jus alpukat selama 30 hari, dilakukan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan profil lipid dan dilakukan pengambilan organ pankreas tikus.

3.7.2 Induksi diet hiperkolesterol

Tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan galur wistar (usia 8-12 minggu) dengan berat 200-300 gram pada kelompok tikus K1, P1, P2, P3 diinduksi dengan kuning telur sekali sehari sebanyak 5 ml/hari selama 30 hari dan diberi makan berupa pakan BR-II *comfeed* yang diproduksi oleh PT. JAPFA COMFEED INDONESIA,Tbk sebanyak 40 gram per hari. Pada sebelum dan sesudah penelitian tikus diambil darahnya untuk mengetahui kadar kolestrol total.

Tikus perlakuan diinduksi hiperkolesterol dengan cara diinduksi kuning telur puyuh (setelah sebelumnya dilakukan pemisahan dengan putih telur puyuh, kuning telur puyuh tidak dicampur dengan bahan lain) sebanyak 5 mL/hari selama 30 hari dengan metode sondetase oral. Indikator terjadinya hiperkolesterol adalah peningkatan profil lipid pada tikus yaitu: kadar LDL lebih dari 130 mg/dL, HDL kurang dari 40 mg/dL, trigliserida lebih dari 150 mg/dL, atau kolesterol total lebih dari 200 mg/dL (Anggraheny dan Suhardjono, 2007; Nelson, 2013).

3.7.3 Pengambilan sampel darah pasca induksi diet hiperkolesterol

Pengambilan sampel darah tikus dari vena mata (*Plexus retroorbitalis*) sebanyak 3-5 ml yang sebelumnya telah dianestesi dengan menggunakan ketamin dan xilazine sebanyak 0,1-0,33 cc per tikus yang diinjeksikan melalui intramuskular. Penggunaaan anestesi tetap menjaga agar tidak terjadi gangguan

pada sistem kardiovaskuler dan respirasinya. Dua hal tersebut dapat dijaga hanya dengan memperhatikan refleks dan mengawasi tanda-tanda vital hewan.

Darah yang telah diambil kemudian disentrifugasi untuk memperoleh serum. Serum kemudian dimasukkan ke tabung baru dan melakukan pengecekan dan monitoring pada kadar profil lipid dari serum yang meliputi kolesterol total, trigliserida, LDL, dan HDL.

3.7.4 Pembuatan jus alpukat

Tikus diberi minuman jus buah alpukat dengan cara memblender daging buah alpukat sebanyak 300 gram yang dicampur akuades dengan perbandingan 1:3. Jus alpukat diberikan sebanyak 2 mL/hari pada kelompok P1, 3 mL/hari pada kelompok P2, dan 4 mL/hari pada kelompok P3. Pemberian minuman jus alpukat dilakukan dengan metode sondetase oral. Pemberian minuman jus alpukat dilakukan selama 30 hari. Setiap harinya satu kali per hari. Minuman jus alpukat diberikan setelah induksi kuning telur puyuh selama 30 hari pada tikus.

3.7.5 Terminasi hewan uji

Tikus dianastesi menggunakan ketamin sebanyak 0,1-0,3 cc per ekor. Tikus dipastikan mati apabila warna pupil memutih, refleks pupil menghilang, respirasi menghilang, pergerakan tidak ada dan nadi tidak teraba. Selanjutnya dilakukan *euthanasia* dengan metode *cervical dislocation* kemudian dilakukan pengambilan organ pankreas.

Pembedahan dan pengambilan organ tikus dilakukan oleh laboran fisiologi yang berpengalaman. Organ pankreas kemudian disimpan dalam formalin 10% yang selanjutnya akan diberikan kepada pihak ketiga untuk dilakukan proses pembuatan preparat (diberikan pada Laboratorium Riset Universitas Islam Indonesia).

Pengelolaan karkas (bangkai) hewan coba dilakukan dengan cara dimasukkan dalam plastik lalu diletakkan di dalam *freezer*. Tindakan selanjutnya yaitu karkas diserahkan kepada PT. Bendi, Yogyakarta untuk dilakukan kremasi.

3.7.6 Pembuatan preparat biologis pankreas

Preparat pankreas dibuat dengan menggunakan bagian *corpus* pankreas tikus. Pembuatan preparat biologis organ pankreas dilakukan di Laboratorium Riset Universitas Islam Indonesia oleh laboran yang berpengalaman.

3.7.7 Analisis sel nekrosis dan sel PMN

Penghitungan jumlah sel nekrosis dan sel PMN dari preparat biologis pankreas tikus dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Preparat biologis pankreas dibuat dengan pewarnaan *Hematoxylin and Eosin* (HE) yang dianalisis menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX23 dengan perbesaran 400x pada 5 lapang pandang yang dipilih secara acak. Penghitungan sel nekrosis dan sel PMN dilakukan secara manual dengan cara menjumlahkan dari 5 lapang pandang sebagai jumlah total dari masing-masing preparat pankreas tikus (Hermawati *et al.,* 2020).

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa data kuantitatif. Data dianalisis secara statistik menggunakan software pengolah data statistik. Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Didapatkan data tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis* untuk mencari perbedaan antara data kelompok sel nekrosis dan sel PMN. Selanjutnya data sel nekrosis yang didapatkan signifikan pada uji *Kruskal-Wallis* dilakukan uji *Post hoc* menggunakan uji *Mann-Whitney*. Kemudian data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapat *ethical clearance* dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan Surat Keterangan Lolos Kaji Etik nomor 4/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2020.

Peneliti memperlakukan hewan coba dengan sebaik-baiknya secara jujur baik dari pengambilan data, pengambilan pustaka, perlakuan hewan coba, analisis data, maupun kegagalan dan keberhasilan penelitian.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Keseluruhan penelitian ini dilakukan mulai dari bulan Januari 2020-Oktober 2020. Penelitian dilakukan setelah mendapatkan persetujuan kode etik dari Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan Surat Keterangan Lolos Kaji Etik nomor 4/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2020.

Pada penelitian ini awalnya menggunakan 23 ekor tikus, namun seiring berjalannya penelitian terdapat 7 ekor tikus yang mati sehingga dieklusi dari penelitian. Berdasarkan hal tersebut, jumlah tikus yang diterminasi berjumlah 15 ekor. Berdasarkan rumus besar sampel Charan dan Biswas (2013), jumlah tikus yang digunakan memenuhi kriteria minimal besar sampel.

4.1.1 Hasil Pemeriksaan Jumlah Sel PMN dan Sel Nekrosis

Berdasarkan hasil pengamatan dan penghitungan pada preparat pankreas didapatkan perbedaan jumlah gambaran histopatologi pankreas. Perbedaan jumlah gambaran ini disebabkan karena tikus mengalami hiperkolesterolemia. Perubahan gambaran histopatologi pankreas ditemukan pada semua kelompok penelitian, kecuali kelompok K1 dan K2 yang tidak memiliki gambaran sel *polymorphonuclear* (PMN). Perubahan tersebut dapat dilihat dengan adanya sel nekrosis dan sel PMN akibat diet hiperkolesterolemia yang menyebabkan adanya hidrolisis trigliserida oleh enzim lipase menjadi asam lemak bebas yang menyebabkan terbentuknya ROS yang selanjutnya merusak sel asinar pankreas. Gambaran adanya sel nekrosis dan sel PMN pada preparat pankreas juga sebagai akibat dari keadaan inflamasi (Muniraj *et al.*, 2012).

Tabel 3. Perbandingan Jumlah Sel Nekrosis dan Sel PMN dengan Uji *Kruskal Wallis*

Histopatologi	Kelompok	N	Mean±Standar Deviasi	*Significancy*
Sel Nekrosis	K1	3	71.00±16.371	0.021*
	K2	3	6.33±1.528	
	P1	3	47.00±29.816	
	P2	3	26.00±10.583	
	P3	3	12.00±5.292	
Sel PMN	K1	3	0.00±0.000	0.333
	K2	3	0.00±0.000	
	P1	3	2.33±3.215	
	P2	3	0.33±0.577	
	P3	3	1.00±1.732	

*. Signifikan secara statistik (p<0.05)

Berdasarkan uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil signifikan (p<0.05) pada sel nekrosis dengan nilai p=0.021 dan diperoleh hasil tidak signifikan (p>0.05) pada sel PMN dengan nilai p=0.333. Sehingga terdapat pengaruh signifikan antara sel nekrosis pada pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol dengan pemberian jus alpukat, akan tetapi tidak terdapat pengaruh signifikan antara sel PMN pada pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol dengan pemberian jus alpukat. Analisis lanjutan yang diperlukan untuk mengetahui sel nekrosis kelompok perlakukan yang paling signifikan menggunakan uji *post hoc Mann-Whitney*.

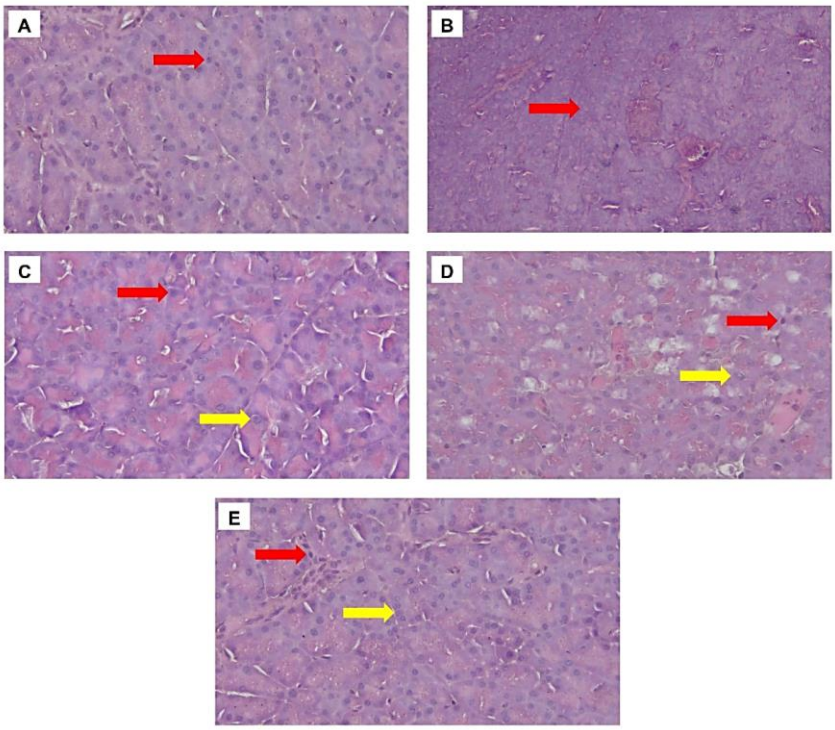
Tabel 4. Hasil Analisis Uji *post hoc Mann-Whitney* pada Sel Nekrosis

	Kelompok	*Significancy*
Sel Nekrosis	P1 dan P2	0.275
	P1 dan P3	0.050*
	P2 dan P3	0.184

*. Signifikan secara statistik (p≤0.05)

Berdasarkan uji *post hoc Mann-Whitney*, terdapat perbedaan yang signifikan (p≤0.05) antara kelompok P1 dan P3 dengan nilai p=0.050. Namun, tidak signifikan (p>0.05) antara kelompok P1 dan P2 dengan nilai p=0.275 dan antara kelompok P2 dan P3 dengan nilai p=0.184.

Pada pengamatan preparat pankreas tikus, didapatkan perubahan gambaran histopatologi yang terlihat pada semua kelompok penelitian, kecuali kelompok K1 dan K2 yang tidak ditemukan adanya sel PMN. Perubahan gambaran histopatologi pada preparat juga diikuti dengan terdapat perbedaan jumlah sel PMN dan sel nekrosis di tiap kelompok penelitian.



Gambar 6. Gambaran histopatologi pankreas tikus (pewarnaan HE perbesaran 400x). A: gambaran pada kelompok K1, B: gambaran pada kelompok K2, C: gambaran pada kelompok P1, C: gambaran pada kelompok P2, D: gambaran pada kelompok P3

Keterangan:

Sel Nekrosis

Sel PMN

4.1.2 Hasil Analisis Data

Hasil analisis data dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikan $p<0.05$ yang berarti distribusi data tidak normal. Berdasarkan hasil uji normalitas, dilakukan uji perbandingan antar kelompok menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Berdasarkan uji *Kruskal Wallis* didapatkan hasil signifikan ($p<0.05$) pada sel nekrosis dengan nilai $p=0.021$ dan diperoleh hasil tidak signifikan ($p>0.05$) pada sel PMN dengan nilai $p=0.333$. Sehingga terdapat pengaruh signifikan antara sel nekrosis pada pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol dengan pemberian jus alpukat, akan tetapi tidak terdapat pengaruh signifikan antara sel PMN pada pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol dengan pemberian jus alpukat. Analisis lanjutan yang diperlukan untuk mengetahui sel nekrosis kelompok perlakukan yang paling signifikan menggunakan uji *post hoc Mann-*

Whitney. Berdasarkan uji *post hoc Mann-Whitney*, terdapat perbedaan yang signifikan (p≤0.05) antara kelompok P1 dan P3 dengan nilai p=0.050. Namun, tidak signifikan (p>0.05) antara kelompok P1 dan P2 dengan nilai p=0.275 dan antara kelompok P2 dan P3 dengan nilai p=0.184.

4.2 Pembahasan

Berdasarkan hasil analisis data penelitian, pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*) memiliki pengaruh yang signifikan terhadap perbedaan jumlah sel nekrosis pada gambaran histopatologis pankreas tikus (*Rattus novergicus*) yang diinduksi diet hiperkolesterol, namun pengaruhnya tidak signifikan pada sel *polymorphonuclear leukocyte* (PMN). Pada pengujian menggunakan *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah sel nekrosis pankreas tikus (p=0.021), namun tidak signifikan pada sel PMN pankreas tikus (p=0.333). Gambaran adanya sel nekrosis dan sel PMN sesuai dengan temuan penelitian dari Wang *et al.,* (2016) dan Pan *et al.,* (2017) yang menemukan bahwa diet tinggi kolesterol dapat berpengaruh secara signifikan terhadap terjadinya jejas pada pankreas yang dilihat dari pembentukan sel nekrosis dan sel PMN.

Pada penelitian didapatkan adanya gambaran histopatologis pada preparat pankreas tikus berupa sel nekrosis dan sel PMN pada setiap kelompok kecuali kelompok K1 dan K2 yang tidak memiliki gambaran sel PMN. Pada kelompok K1 tidak didapatkan sel PMN dikarenakan neutrofil merupakan mediator awal inflamasi yang muncul di fase awal terjadinya reaksi inflamasi. Sehingga pada kelompok K1 yang merupakan kelompok tanpa intervensi jus alpukat mengalami peningkatan keparahan yang dapat dilihat bahwa hampir seluruh sel asinar pankreas mengalami nekrosis sehingga sel PMN pada kondisi ini sulit untuk ditemukan. Sedangkan kelompok K2 karena merupakan kelompok normal yang hanya diberikan pakan sehingga tidak terdapat sel PMN. Terbentuknya sel nekrosis dan sel *polymorphonuclear* (PMN) pada preparat pankreas tikus terjadi akibat diet hiperkolesterolemia yang menyebabkan adanya hidrolisis trigliserida oleh enzim lipase menjadi asam lemak bebas yang menyebabkan terbentuknya ROS yang selanjutnya merusak sel asinar pankreas. Gambaran adanya sel nekrosis dan sel PMN pada preparat pankreas juga sebagai akibat dari keadaan inflamasi akibat terbentuknya ROS. Kerusakan sel asinar akibat peningkatan ROS

menyebabkan aktivasi *chemoattractants*. Kondisi ini menyebabkan jejas sel asinar bertambah berat yang selanjutnya menimbulkan infiltrasi makrofag dan neutrofil. Aktivitas dari mediator inflamasi selanjutnya akan menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas vaskular pankreas yang dapat menimbulkan perdarahan, edema, dan nekrosis pada pankreas (Muniraj *et al.*, 2012; Staubli *et al., 2015*).

Perbedaan signifikan sel nekrosis didapatkan pada antara kelompok P1 dan P3 dengan nilai p=0.050. Perbedaan signifikan pada sel nekrosis pankreas tikus pada kelompok yang diberi jus alpukat dipengaruhi oleh kandungan antioksidan dalam daging buah alpukat. Antioksidan yang terkandung dalam daging buah alpukat yaitu berupa MUFA, vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan selenium serta fitokemikal lainnya yang mampu menghentikan kerusakan oksidatif akibat peningkatan ROS pada pankreas tikus (Anggraheny dan Suhardjono, 2007; Wardani, 2014; Tabeshpour *et al.,* 2017).

Beberapa ROS yang mengalami peningkatan akibat diet hiperkolesterolemia yaitu superoksida, radikal hidroksil, dan radikal lipid yang menyebabkan kerusakan komponen selular dan menganggu fungsi normal sel. Rusaknya komponen seluler akibat peningkatan ROS menyebabkan terbentuknya sel nekrosis. Pemberian jus alpukat yang didalamnya terkandung antioksidan yang tinggi dapat menghambat kerusakan oksidatif akibat ROS. Antioksidan cenderung mengikat radikal bebas karena antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi atau bersifat reduktor kuat. Antioksidan yang terkandung dalam daging buah alpukat dapat mereduksi ROS yang memiliki sifat sangat tidak stabil menjadi radikal stabil yang tidak berbahaya. Sehingga pemberian jus alpukat yang mengandung antioksidan dapat mempengaruhi perbaikan dan pencegahan terbentuknya sel nekrosis pada preparat pankreas tikus (Khaira, 2010; Stapleton *et al.,* 2010).

Penelitian terkait pengaruh alpukat terhadap jumlah sel nekrosis dan sel PMN pankreas tikus belum pernah diteliti, tetapi sudah ada beberapa penelitian yang meneliti terkait pengaruh efek antioksidan terhadap sel nekrosis dan sel PMN pankreas. Penelitian yang dilakukan oleh Mirmalek *et al.,* (2016) mengenai pengaruh efek antioksidan dan antiinflamasi dari koenzim Q10 pada pankreatitis akut yang diinduksi L-arginin pada tikus menunjukkan jumlah infiltrat sel inflamasi dan sel nekrosis pada kelompok intervensi antioksidan memiliki skor yang lebih rendah dibanding kelompok tanpa intervensi antioksidan (Mirmalek *et al.*, 2016).

Penelitian yang dilakukan oleh Esrefoglu (2012) juga menunjukkan adanya efek yang sangat efektif pada kombinasi antioksidan dari N-asetil-sistein, selenium, dan vitamin C yang mampu mengurangi stress oksidatif, menghambat peroksidasi lipid, dan mengurangi sitokin proinflamasi pada pankreas tikus yang diinduksi L-arginin (Esrefoglu, 2012). Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, pengaruh pemberian jus alpukat yang mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi memiliki efek terhadap perbedaan sel nekrosis dan sel PMN pada pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol.

Berdasarkan analisis data penelitian juga menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan pada sel PMN pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol pada semua kelompok penelitian. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Krause *et al.,* (2001) mengenai pengaruh vitamin C pada fungsi neutrofil setelah melakukan latihan intensitas tinggi menunjukkan bahwa asupan vitamin C tidak mampu memperbaiki gangguan fungsi neutrofil yang diinduksi latihan intensitas tinggi (Krause *et al.,* 2001). Pada penelitian yang dilakukan oleh Peake dan Suzuki (2004) mengenai aktivasi neutrofil, suplemen antioksidan, dan latihan yang menginduksi stres oksidatif didapatkan hasil bahwa N-asetil-sistein menunjukkan hasil yang signifikan sementara antioksidan vitamin C dan vitamin E memberikan hasil yang tidak signifikan dalam mengurangi produksi ROS oleh sel neutrofil (Peake dan Suzuki, 2004). Berdasarkan penelitian di atas dapat diketahui bahwa kandungan spesifik antioksidan, dosis pemberian antioksidan, dan kombinasi beberapa kandungan spesifik antioksidan dapat mempengaruhi perbedaan hasil dalam mengurangi dan mencegah terbentuknya sel PMN.

Pembentukan sel PMN pada pankreas yang diinduksi diet hiperkolesterol terjadi akibat adanya hidrolisis lipid terutama trigliserida menjadi asam lemak bebas oleh enzim lipase yang menyebabkan terbentuknya ROS. Pembentukan ROS menyebabkan rusaknya sel asinar pankreas sehingga aktivitas mediator inflamasi meningkat yang menimbulkan inflamasi pada pankreas. Kondisi inflamasi ditunjukkan dengan adanya sel PMN yang selanjutnya aktivasi sel PMN juga menyebabkan peningkatan ROS karena sel PMN dapat mengaktivasi enzim proteolitik seperti katepsin, kolagenase, dan elastase. Mediator inflamasi awal yang berperan adalah TNF-α, *interleukin-6* (IL-6), dan IL-8. Mediator inflamasi tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas vaskular pankreas yang dapat berlanjut menjadi nekrosis (Muniraj *et al.*, 2012; Lerch *et al.,* 2013;

Cahyono, 2014; Murtaugh *et al.,* 2015; Pratama, 2016; Pan *et al.,* 2017; Biczo *et al.,* 2018).

Pengaruh pemberian jus alpukat yang memiliki kandungan antioksidan tinggi memiliki efek signifikan pada jumlah sel nekrosis pankreas tikus, tetapi tidak signifikan pada jumlah sel PMN pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol. Penelitian ini memiliki beberapa limitasi yang dapat dijadikan patokan perbaikan pada penelitian selanjutnya. Kekurangan dari penelitian ini adalah tidak menganalisa mengenai hubungan durasi pemberian diet hiperkolesterol terhadap histopatologis pankreas tikus. Metode yang dapat digunakan yaitu dengan cara memberikan induksi kuning telur dalam kelompok perlakuan dengan berbagai durasi induksi kuning telur yang berbeda-beda. Karena dengan adanya analisa hubungan durasi diet hiperkolesterol dengan terbentuknya sel nekrosis dan sel PMN akan memudahkan untuk melihat ada tidaknya perbedaan histopatologis pankreas yang signifikan. Kekurangan selanjutnya yaitu tidak melakukan analisa terkait pengaruh jumlah dosis diet hiperkolesterol terhadap pembentukan sel nekrosis dan sel PMN pada pankreas tikus. Metode yang dapat digunakan hampir sama dengan penelitian ini. Perbedaannya yaitu penelitian tidak diberi intervensi jus alpukat dan untuk induksi hiperkolesterol menggunakan dosis kuning telur berbeda dalam beberapa kelompok perlakuan untuk mengetahui dosis minimal kuning telur yang dapat menyebabkan terbentuknya sel nekrosis dan sel PMN pada pankreas tikus. Karena dengan dilakukannya analisa tersebut, memungkinkan untuk mengetahui dosis minimal pemberian diet hiperkolesterol yang dapat menimbulkan sel nekrosis dan sel PMN. Kekurangan berikutnya yaitu penghitungan sel nekrosis dan sel PMN dilakukan secara manual sehingga terdapat kesulitan dalam menemukan sel PMN pada kelompok K1 karena pankreas sudah dipenuhi dengan sel nekrosis. Sebaiknya penghitungan sel nekrosis dan sel PMN dapat menggunakan *Image J* untuk memudahkan proses penghitungan sel nekrosis dan sel PMN.

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian jus alpukat (*Persea americana Mill*) memiliki pengaruh signifikan terhadap perbedaan jumlah sel nekrosis pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol, tetapi tidak signifikan pada sel PMN pankreas tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol.

5.2 Saran

Agar penelitian di masa depan dapat menjadi lebih baik, penulis memberikan beberapa saran sebagai berikut:

1. Diperlukan penelitian untuk menganalisa mengenai hubungan durasi pemberian diet hiperkolesterol terhadap histopatologis pankreas tikus.
2. Diperlukan penelitian untuk menganalisa terkait pengaruh jumlah dosis diet hiperkolesterol terhadap pembentukan sel nekrosis dan sel PMN pada pankreas tikus.
3. Diperlukan penelitian secara khusus terkait pengaruh kandungan antioksidan secara spesifik dari alpukat untuk mengetahui pengaruh zat spesifik terhadap tikus yang diinduksi diet hiperkolesterol.
4. Diperlukan penghitungan menggunakan *Image J* untuk menghitung jumlah sel nekrosis dan sel PMN.

DAFTAR PUSTAKA

Anggraheny H. D., Suhardjono., 2007, Pengaruh Pemberian Jus Persea Americana Mill. Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum Tikus Jantan Galur Wistar Hiperlipidemia, pp. 1–18.

Arief M., Kasim S., Sulaeman A., Widodo J., 2014, Hubungan Obesitas dan Hipertrigliseridemia dengan Risiko Perlemakan Hati pada Pasien di Makassar, *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, Volume 1(4).

Biczo G., Vegh E. T., Shalbueva N., Mareninova O. A., Elperin J., Lotshaw E., *et al.,* 2018, Mitochondrial Dysfunction, Through Impaired Autophagy, Leads to Endoplasmic Reticulum Stress, Deregulated Lipid Metabolism, and Pancreatitis in Animal Models, *Gastroenterology*. Elsevier, Volume 154(3), pp. 689–703. doi: 10.1053/j.gastro.2017.10.012.

Bocos C., Herrera E., 1998, Pantethine stimulates lipolysis in adipose tissue and inhibits cholesterol and fatty acid synthesis in liver and intestinal mucosa in the normolipidemic rat, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Volume 6(1), pp. 59–66. doi: 10.1016/S1382-6689(98)00020-9.

Bollen T. L., 2016, Acute pancreatitis: International classification and nomenclature, *Clinical Radiology*, Volume 71(2), pp. 121–133. doi: 10.1016/j.crad.2015.09.013.

Cahyono J. S. B., 2014, Tata Laksana Terkini Pankreatitis Akut, *PPDS2 Gastroenterohepatologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta*, Volume 27(2), pp. 43–50.

Charan J., Biswas T., 2013, How to calculate sample size for different study designs in medical research?, *Indian Journal of Psychological Medicine*, Volume 35(2), pp. 121–126. doi: 10.4103/0253-7176.116232.

Chung D. W., Kim W. D., Noh S. K., Dong M. S., 2008, Effects of hydrophilic and lipophilic β-sitosterol derivatives on cholesterol absorption and plasma cholesterol levels in rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume 56(15), pp. 6665–6670. doi: 10.1021/jf8004405.

Duarte P. F., Chaves M. A., Borges C. D., Mendonca C. R. B., 2017, Avocado: Characteristics, health benefits, and uses, *International News on Fats, Oils and Related Materials*, Volume 28(3), pp. 28–32. doi: 10.1590/0103-8478cr20141516.

Esrefoglu M, 2012, Experimental and clinical evidence of antioxidant therapy in acute pancreatitis, *World Journal of Gastroenterology (WJG)*, Volume 18(39): 5533-5541.

Fulgoni V. L., Dreher, M., Davenport A. J., 2013, Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008, *Nutrition Journal*, Volume 12(1), pp. 1–6. doi: 10.1186/1475-2891-12-1.

Fuller S., Beck E., Salman H., Tapsell L., 2016, New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review, *Plant Foods for Human Nutrition*, Volume 71(1). doi: 10.1007/s11130-016-0529-6.

Grosso G., Bei R., Mistretta A., Marventano S., Calabrese G., Masuelli L., *et al.*, 2013, Effects of Vitamin C on health: a review of evidence, (2), pp. 1017–1029.

Guyton, Hall. 2016. Textbook of medical physiology. 13th ed. Philadelphia, PA, USA: Elsevier.

Hegyi P., Rakonczay Z., 2015, The role of pancreatic ducts in the pathogenesis of acute pancreatitis, *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)*. Elsevier India, a division of Reed Elsevier India Pvt. Ltd, Volume 15(4), pp. S13–S17. doi: 10.1016/j.pan.2015.03.010.

Hermawati C. M., Sitasiwi A. J., Jannah S. N., 2020, Studi Histologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus novergicus L.*) Setelah Pemberian Cuka dari Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr*), Jurnal Pro-Life, Volume 7 No. 1:61-70.

Howles P. N., 2016, Cholesterol Absorption and Metabolism, *Methods in Molecular Biology*, 1438, pp. 67–78. doi: 10.1007/978-1-4939-3661-8.

Ito M. K., 2004, The Metabolic Syndrome: Pathophysiology, Clinical Relevance, and Use of Niacin, *Annals of Pharmacotherapy*, Volume 38(2), pp. 277–285. doi: 10.1345/aph.1D218.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan. Jakarta.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Profil Penyakit Tidak Menular Tahun 2016*. Direktorat pencegahan dan pengendalian penyakit tidak menular. Jakarta.

Khaira K., 2010, Menangkal Radikal Bebas dengan Antioksidan. Jurnal Sainstek. Volume 2 No. 2:183-187.

Khan J., Nordback I., Sand J., 2013. Serum lipid levels are associated with the severity of acute pancreatitis, *Digestion*, Volume 87(4), pp. 223–228. doi: 10.1159/000348438.

Koletzko B., 2015, Hypercholesterolemia, *World Review of Nutrition and Dietetics*, Volume 113, pp. 234–238. doi: 10.1159/000375191.

Krause P., Patruta S., Daxbock F., Fladerer P., Biegelmayer C., Wenisch C., 2001, Effect of Vitamin C on Neutrophil Function After High-Intensity Exercise, Europian Journal of Clinical Examination. Volume 31:258-263.

Labonté M. È., Jenkins D. J. A., Lewis G. F., Chiavaroli L., Wong J. M. W., Kendall C. W. C., *et al.,* 2013, Adding MUFA to a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods reduces apoAI fractional catabolic rate in subjects with dyslipidaemia, *British Journal of Nutrition*, Volume 110(3), pp. 426–436. doi: 10.1017/S000711451200534X.

Lerch M. M., Gorelick F. S., 2013, Models of acute and chronic pancreatitis, *Gastroenterology*. Elsevier Inc., Volume 144(6), pp. 1180–1193. doi: 10.1053/j.gastro.2012.12.043.

Listiyana A. D., Mardiana., Prameswari G. N., 2013, Obesitas Sentral Dan Kadar Kolesterol Darah Total, *KESMAS - Jurnal Kesehatan Masyarakat*, Volume 9(1), pp. 37–43. doi: 10.15294/kemas.v9i1.2828.

Mirmalek S. A., Boushehrinejad A. G., Yavari H., Kardeh B., Parsa Y., Tabatabaee S. A.S ., *et al.*, 2016, Antioxidant and Anti-Inflammatory Effect of Coenzyme Q10 on L-Arginine-Induced Acute Pancreatitis Rat, Volume 2016:1-8.

Muniraj T., Gajendran M., Thiruvengadam S., Raghuran K., Rao S., Devaraj P., 2012, Acute pancreatitis, *Northwest medicine*. Elsevier Inc., Volume 47(2), p. 105. doi: 10.4172/2165-7548.1000267.

Murtaugh L. C., Keefe M. D., 2015, Regeneration and Repair of the Exocrine Pancreas, *Annual Review of Physiology*, Volume 77(1), pp. 229–249. doi: 10.1146/annurev-physiol-021014-071727.

Naruta E., Buko V., 2001, Hypolipidemic effect of pantothenic acid derivatives in mice with hypothalamic obesity induced by aurothioglucose, *Experimental and Toxicologic Pathology*, Volume 53(5), pp. 393–398. doi: 10.1078/0940-2993-00205.

Nelson R. H., 2013, Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease, *Robert Prim Care.* Volume 40(1): pp. 195-211.

Onwe P. E., Folawiyo M. A., Anyigor O. C .S., Umahi G., Okorocha A. E., Afoke A. O., 2015, Hyperlipidemia: Etiology and Possible Control, *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, Volume 14(10), pp. 2279–861. doi: 10.9790/0853-1410693100.

Ramos P. M. E., Ortiz M. A., Chamorro C. G., Hernandez N. M. D., Garduno S. L., Necoechea M. H., *et al.,* 2012, Hypolipidemic Effect of Avocado (Persea americana Mill) Seed in a Hypercholesterolemic Mouse Model, *Plant Foods for Human Nutrition*, Volume 67(1), pp. 10–16. doi: 10.1007/s11130-012-0280-6.

Pan Y., Li Y., Gao L., Tong Z., Ye B., Liu S., *et al.,* 2017, Development of a novel model of hypertriglyceridemic acute pancreatitis in mice, *Scientific Reports*, Volume 7, pp. 1–10. doi: 10.1038/srep40799.

Park E., Edirisinghe I., Burton-Freeman B., 2018, Avocado fruit on postprandial markers of cardio-metabolic risk: A randomized controlled dose response trial in overweight and obese men and women, *Nutrients*, Volume 10(9). doi: 10.3390/nu10091287.

Park S., Ham J. O., Lee B. K., 2015, Effects of total vitamin a, vitamin c, and fruit intake on risk for metabolic syndrome in korean women and men, *Nutrition*. Elsevier Inc., Volume 31(1), pp. 111–118. doi: 10.1016/j.nut.2014.05.011.

Peake J., Suzuki K., 2004, Neutrophil Activations, Antioxidant Supplements, and Exercise-Induced Oxidative Stress. Waseda University: 129-141.

Pratama H., 2016, Tatalaksana Pankreatitis Akut, *Cermin Dunia Kedokteran*, Volume 43(3), pp. 190–194.

Rahman S., 2016, Studi Pendahuluan Pengaruh Alpukat Terhadap Profil Lemak di Poli Penyakit Dalam Klinik Iman, *Artikel Penelitian*, 1, pp. 1–9.

Riswanto., 2013. *Pemeriksaan Laboratorium Hematologi*. Yogyakarta: Alfameda & Kenal Medika.

Robbins S.L., Cotran R.S., Kumar V., Abbas A., Fausto N., Aster J., 2007. *Pathologic Basis of Disease.* 8th Edition. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier.

Sharma D., Hill A. E., Christopher M. M., 2018, Hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia as biochemical markers of disease in companion rabbits, *Veterinary Clinical Pathology*, Volume 47(4), pp. 589–602. doi: 10.1111/vcp.12676.

Staubli S. M., Oertli D., Nebiker C. A., 2015, Laboratory markers predicting severity of acute pancreatitis, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. Informa Healthcare USA, Inc, Volume 52(6), pp. 273–283. doi: 10.3109/10408363.2015.1051659.

Stapleton P. A., Goodwill A. G., James M. E., Brock R. W., Frisbee J. C., 2010, Hypercholesterolemia and Microvascular Dysfunction: Interventional Strategies, *Journal of Inflammation (JI)*, 7:54.

Tabeshpour J., Razavi B. M., Hosseinzadeh H., 2017, Effects of Avocado (Persea americana) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic Review, *Phytotherapy Research*, Volume 31(6), pp. 819–837. doi:

10.1002/ptr.5805.

Wang N., Tan H. Y., Li S., Xu Y., Guo W., Feng Y., 2017, Supplementation of micronutrient selenium in metabolic diseases: Its role as an antioxidant, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. doi: 10.1155/2017/7478523.

Wang S. H., Chou Y. C., Shangkuan W. C., Wei K. Y., Pan Y. H., Lin H. C., 2016 Relationship between plasma triglyceride level and severity of hypertriglyceridemic pancreatitis, *PLoS ONE*, Volume 11(10), pp. 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0163984.

Wardani Y. A. K., 2014, Potential Of Avocado (Persea americana mill) To Reduce Coronary Heart Disease Risk, *Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, pp. 56–60.

Weschenfelder C., Santos L. J., Souza P. A. L., Campos V. P., Marcadenti A., 2015, Avocado and Cardiovascular Health, *Open Journal of Endocrine and Metabolic Diseases*, Volume 05(07), pp. 77–83. doi: 10.4236/ojemd.2015.57010.

World Health Organization. 2008. *Raised Cholesterol*. Global health observatory data.

Wijayanti., Yulina., Elliya R., 2014, Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (Persea Americana Mill) Terhadap Penurunan Kolesterol Tikus Putih Jantan (Rattus Novergicus) Galur Wistar Kota Bandar Lampung Tahun 2014, *Jurnal Kesehatan Holistik*, Volume 8(3), pp. 147–152.

Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

Van der Wulp M. Y. M., Verkade H. J., Groen A. K., 2013, Regulation of cholesterol homeostasis, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 368(1–2), pp. 1–16. doi: 10.1016/j.mce.2012.06.007.

Zalaket J., Hanna-Wakim L., Matta J., 2018, Association between HDL Cholesterol Levels and the Consumption of Vitamin A in Metabolically Healthy Obese Lebanese: A Cross-Sectional Study among Adults in Lebanon, *Cholesterol*, doi: 10.1155/2018/8050512.

Zhang T., Zhou L., Li C. C., Shi H., Zhou X., 2016, TSH increases synthesis of hepatic ATP-binding cassette subfamily A member 1 in hypercholesterolemia, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. Elsevier Ltd, Volume 476(2), pp. 75–81. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.05.054.

Lampiran 1. Keterangan Lolos Kaji Etik

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

FAKULTAS KEDOKTERAN
Gedung Dr. Soekiman Wirjosandjojo
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. (0274) 898444 ext. 2096, 2097
F. (0274) 898459 ext 2007
E. fk@uii.ac.id
W. fk.uii.ac.id

Nomor : 4/Ka.Kom.Et/70/KE/IV/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (*Persea americana Mill*) terhadap Jumlah Sel Nekrosis dan Sel Polymorphonuclear Leukocyte (PMN) pada Pankreas Tikus (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi Diet Hiperkolesterol"

Peneliti Utama / *Principal Investigator* : **Gusta Nariski**

Nama Institusi / *Name of the Institution* : **Program Studi Pendidikan Dokter FK UII**

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 24 April 2020
Ketua
Chairman

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN * FAKULTAS KEDOKTERAN

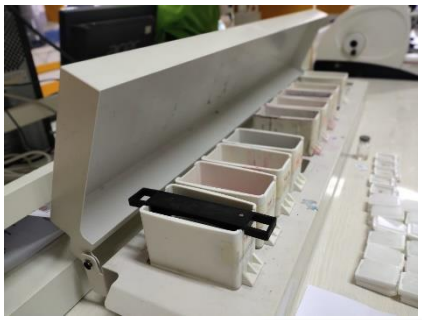
Ella Nurma Kuantari, M.Sc, Sp.PK

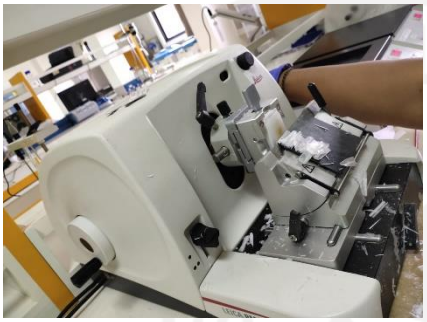
***Ethical Approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan**
****Peneliti berkewajiban**

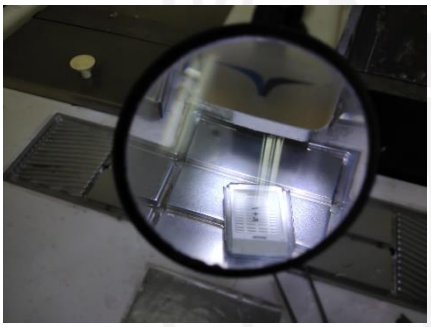
1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
   a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
   b. Penelitian berhenti di tengan jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian

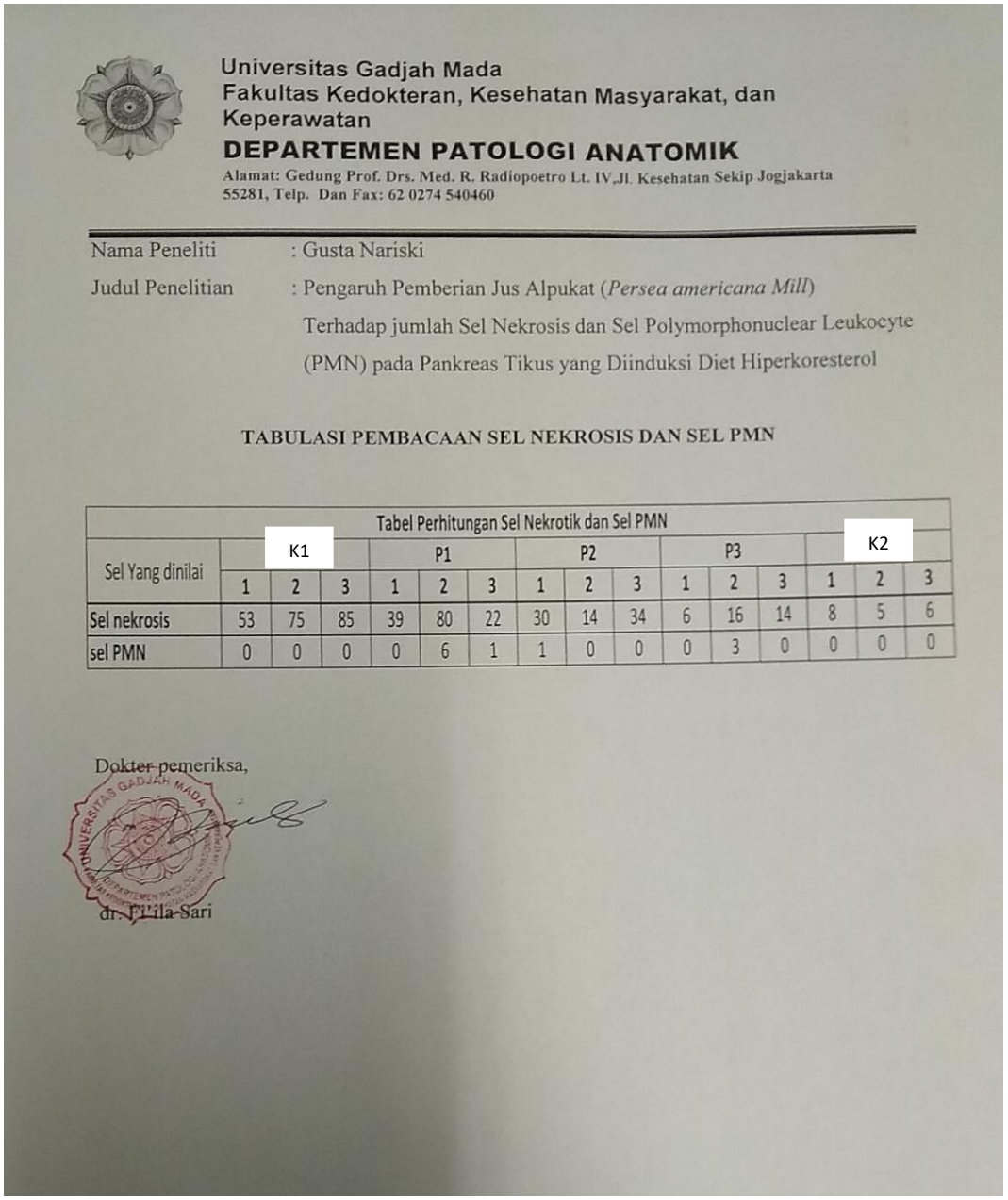
Lampiran 3. Pembuatan Preparat







Lampiran 4. Bacaan Preparat



Universitas Gadjah Mada
Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan
DEPARTEMEN PATOLOGI ANATOMIK
Alamat: Gedung Prof. Drs. Med. R. Radiopoetro Lt. IV,Jl. Kesehatan Sekip Jogjakarta 55281, Telp. Dan Fax: 62 0274 540460

Nama Peneliti : Gusta Nariski

Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Jus Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap jumlah Sel Nekrosis dan Sel Polymorphonuclear Leukocyte (PMN) pada Pankreas Tikus yang Diinduksi Diet Hiperkoresterol

TABULASI PEMBACAAN SEL NEKROSIS DAN SEL PMN

Tabel Perhitungan Sel Nekrotik dan Sel PMN

Sel Yang dinilai	K1			P1			P2			P3			K2		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Sel nekrosis	53	75	85	39	80	22	30	14	34	6	16	14	8	5	6
sel PMN	0	0	0	0	6	1	1	0	0	0	3	0	0	0	0

Dokter pemeriksa,

dr. Fi'ila-Sari

Lampiran 5. Hasil Analisis Data

Tests of Normality[a,b]

		Kolmogorov-Smirnov[c]			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sel_PMN	P1	.328	3	.	.871	3	.298
	P2	.385	3	.	.750	3	.000
	P3	.385	3	.	.750	3	.000
Sel_Nekrosis	K1	.263	3	.	.955	3	.593
	K2	.253	3	.	.964	3	.637
	P1	.272	3	.	.946	3	.552
	P2	.314	3	.	.893	3	.363
	P3	.314	3	.	.893	3	.363

a. Sel_PMN is constant when Kelompok = K1. It has been omitted.

b. Sel_PMN is constant when Kelompok = K2. It has been omitted.

c. Lilliefors Significance Correction

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Sel_PMN	K1	3	6.00
	K2	3	6.00
	P1	3	11.17
	P2	3	8.17
	P3	3	8.67
	Total	15	
Sel_Nekrosis	K1	3	13.33
	K2	3	2.50
	P1	3	11.00
	P2	3	8.17
	P3	3	5.00
	Total	15	

Test Statistics[a,b]

	Sel_PMN	Sel_Nekrosis
Chi-Square	4.584	11.550
df	4	4
Asymp. Sig.	.333	.021

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K1	3	5.00	15.00
	K2	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K1	3	4.33	13.00
	P1	3	2.67	8.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K1	3	5.00	15.00
	P2	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K1	3	5.00	15.00
	P3	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K2	3	2.00	6.00
	P1	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K2	3	2.00	6.00
	P2	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	K2	3	2.50	7.50
	P3	3	4.50	13.50
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.328
Asymp. Sig. (2-tailed)	.184
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	P1	3	4.33	13.00
	P2	3	2.67	8.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	8.000
Z	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.400[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	P1	3	5.00	15.00
	P3	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Sel_Nekrosis	P2	3	4.50	13.50
	P3	3	2.50	7.50
	Total	6		

Test Statistics[a]

	Sel_Nekrosis
Mann-Whitney U	1.500
Wilcoxon W	7.500
Z	-1.328
Asymp. Sig. (2-tailed)	.184
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200[b]

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

Report

Kelompok		Sel_PMN	Sel_Nekrosis
K1	Mean	.00	71.00
	N	3	3
	Std. Deviation	.000	16.371
K2	Mean	.00	6.33
	N	3	3
	Std. Deviation	.000	1.528
P1	Mean	2.33	47.00
	N	3	3
	Std. Deviation	3.215	29.816
P2	Mean	.33	26.00
	N	3	3
	Std. Deviation	.577	10.583
P3	Mean	1.00	12.00
	N	3	3
	Std. Deviation	1.732	5.292
Total	Mean	.73	32.47
	N	15	15
	Std. Deviation	1.668	28.180