

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DAN LIMPA PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

Oleh:

VICTY FELISTIANI
NIM. 13620068



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana*
Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DAN LIMPA
PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
VICTY FELISTIANI
NIM. 13620068**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DAN LIMPA PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

Oleh:
VICTY FELISTIANI
NIM. 13620068

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal, 3 November 2017

Pembimbing I



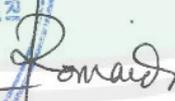
Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Pembimbing II



Umaiatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

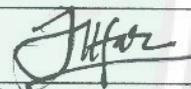
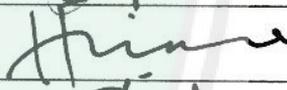
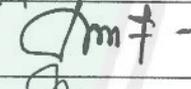
UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR DAN LIMPA PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINFEKSI *Staphylococcus aureus*

SKRIPSI

Oleh:
VICTY FELISTIANI
NIM. 13620068

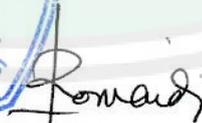
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 22 November 2017

Penguji Utama	Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si	
	NIP. 19650509 199903 2 002	
Ketua Penguji	drg. Anik Listiyana, M.Biomed	
	NIP. 19800805 200912 2 001	
Sekretaris Penguji	Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si	
	NIP. 19671113 199402 2 001	
Anggota Penguji	Umaiyatus Syarifah, M.A	
	NIP. 19820925 200901 2 005	



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Vicky Felistiani
NIM : 13620068
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Limpa pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 3 November 2017

Yang membuat pernyataan,



Vicky Felistiani

NIM. 13620068

MOTTO

”خَيْرُكُمْ مَنْ تَعَلَّمَ الْقُرْآنَ وَعَلَّمَهُ.”
(رواه البخارى)

“Sebaik-baiknya kamu adalah orang yang belajar al-Qur’an dan yang mengajarkannya (HR.Bukhari).”

HALAMAN PERSEMBAHAN

حمدا و شكرا لله تعالي
لا احصي ثناء عليك انت كما اثنيت علي نفسك يا الله
اللهم صل علي سيدنا محمد و علي اله و صحبه وسلم

Segala pujian nan indah dan rasa syukur berlimpah hanya untuk Allah SWT
Yang Maha Tinggi derajat-Nya

Tak dapat ku hitung pujian untuk-Mu, karena Engkau Maha Sempurna
seperti yang Engkau puji atas Dzat-Mu sendiri
Shalawat mengiringkan salam penghormatan pada sesosok pribadi yang
hanya padanya Rabb semesta alam haturkan shalawat, yang dengannya kita
begitu dekat, yang bersedia menanggung beban ummatnya nan berat, yang
untuk kebaikan kita dia amat bersemangat, yang selalu lembut serta
penyayang terhadap seluruh ummat dan yang keseluruhan dirinya adalah
cinta, Muhammad ﷺ, namanya terpuji di langit dan di bumi.

Persembahan teristimewa untuk kedua ibu-bapak,
Bapak Yeddy Mahmud Ishaq dan Ibu Ida Farida
tanpa adanya ridho dari mereka berdua tidak mungkin Allah memudahkan
langkah saya dalam menimba ilmu. Serta kedua adik saya,
Shafa Rizkika Hamidah dan Fahira Ramadhani Yusuf.
Terimakasih atas do'a, semangat, motivasi, nasehat, dan kasih sayang yang
tak terkira sehingga saya dapat merasakan nikmatnya beragam rasa dalam
tiap tegukan pengetahuan.

Terimakasih tak terkira saya ucap pada pihak-pihak yang telah turut
membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
Karya ini sederhana namun penuh harap bermanfaat, karena dirancang
dengan buah pikiran, arahan dan saran dari berbagai pihak.

جزاكم الله خيرا كثيرا

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah arobiil'aalamiin, puja dan puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT. Yang telah melimpahkan rahmat, hidayah serta kasih sayang-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Dan Limpa Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*” ini. Tidak lupa pula untaian sholawat dan salam penulis panjatkan kepada Rasulullah Muhammad SAW yang telah diutus ke bumi sebagai lentera bagi hati manusia. Nabi yang telah menuntun manusia dari zaman yang biadab menuju zaman beradab dengan beragam ilmu pengetahuan yang luar biasa seperti saat ini.

Penulisan skripsi yang telah penulis susun dibuat untuk diajukan kepada Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) serta untuk kemajuan ilmu pengetahuan di negeri tercinta, Indonesia.

Dengan ini penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bantuan dari pihak-pihak yang terkait, Oleh karena itu, pada kesempatan ini tidak lupa penulis mengucapkan banyak terimakasih seiring doa dan harapan *jazaakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam kegiatan penelitian maupun dalam penyusunan skripsi. Ucapan terimakasih ini penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, dan Dr. Evika Sandi Savitri, M.P. yang telah memberikan ilmu kepada penulis semoga Allah selalu melindungi beliau.
5. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, selaku dosen pembimbing Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Umaiatus Syarifah, M.A, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan arahan serta pandangan sains dari perspektif Islam.
7. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si dan drg. Anik Listiyana, M.Biomed selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga membantu terselesaikannya skripsi ini.

8. Kholifah Holil, M.Si, selaku dosen wali yang selalu memotivasi dan memberikan arahan selama mengemban ilmu di Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh dosen, Laboran dan Staf Administrasi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
10. Bapak Yeddy Mahmud Ishaq dan Ibu Ida Farida yang telah merawat dan menyayangiku tanpa pernah bosan dan minta balas budi serta iringan doa, motivasi, dan semangat yang tak henti-hentinya dicurahkan kepada penulis sampai saat ini.
11. Teman saya dari jaman masih mondok sampai masa kuliah, Fathiyya Nur Rachman yang karenanya saya diperbolehkan kuliah jauh, yang selalu menjaga saya ketika payah dan menemani saya ketika senang.
12. Keluarga besar IKAMMADA Malang, teman-teman seperjuangan di tanah rantau yang selalu menguatkan dan saling memotivasi.
13. Teman satu tim penelitian, Meike Tiya Kusuma dan Aulia Nur Kumala Dewi yang berjuang bersama-sama selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.
14. Teman-teman yang selalu saya repotkan selama studi S1 ini, Muzdalifah, Kamel, Herlina, Army, Fia, mbak Oky, Shaddiqah, mbak Nurul, dan masih banyak yang tak bisa disebut satu-persatu. Terimakasih atas kasih sayang dan arahan dari kalian.
15. Teman-teman Keluarga Besar Biologi B, terimakasih telah menjadi keluarga berbagi suka dan duka selama penulis menempuh studi S1.
16. Teman-teman Biologi angkatan 2013 yang berjuang bersama menyelesaikan studi S1 di prodi biologi ini
17. Teman-teman Biologi angkatan 2012-2016 serta para asisten yang telah banyak memberikan ilmu, semangat dan motivasi untuk menyelesaikan studi S1 di jurusan Biologi ini.
18. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materiil.

Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Aamiin Ya Rabbal 'Aalamiin.*
Wassalaamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 3 November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مختص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	9
1.3 Tujuan penelitian.....	9
1.4 Hipotesis	10
1.5 Manfaat Penelitian.....	10
1.6 Batasan masalah	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.).....	13
2.1.1 Morfologi Alpukat <i>Persea americana</i> Mill.....	13
2.1.2 Klasifikasi Alpukat <i>Persea americana</i> Mill.....	15
2.1.3 Kandungan Fitokimia dan Manfaat <i>Persea americana</i> Mill.	17
2.1.4 Metode Ekstraksi Maserasi	19

2.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.2.1	Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.2.2	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	25
2.2.3	Patogenesis Infeksi <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.2.4	Pengobatan <i>Staphylococcus aureus</i> dan Resistensi Antibiotik	29
2.3	Hepar	31
2.3.1	Anatomi Hepar	31
2.3.2	Histologi Hepar	32
2.3.3	Fungsi Hepar	34
2.3.4	Patologi Hepar	35
2.4	Limpa	38
2.4.1	Anatomi Limpa	39
2.4.2	Histologi Limpa	40
2.4.3	Fungsi Limpa	41
2.4.4	Patologi Limpa	42
 BAB III METODE PENELITIAN		
3.1	Rancangan Penelitian	45
3.2	Populasi dan Sampel	45
3.3	Variabel Penelitian	46
3.4	Waktu dan Tempat	47
3.5	Alat dan Bahan	48
3.5.1	Alat	48
3.5.2	Bahan	48
3.6	Prosedur Penelitian	49
3.6.1	Aklimatisasi Hewan Coba	49
3.6.2	Persiapan Ekstrak Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	49
3.6.3	Persiapan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
3.6.4	Injeksi dan Uji Konfirmasi <i>Staphylococcus aureus</i>	52
3.6.5	Pemberian Terapi Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat (<i>P. americana</i> Mill.)	55

3.6.6 Pemberian dan Penentuan Dosis Antibiotik Helixim	56
3.6.7 Euthanasia dan Pengambilan Sampel Organ Hepar dan Organ Limpa Hewan Coba	56
3.6.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar dan Limpa.....	57
3.6.9 Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar dan Limpa	60
3.6.10 Skoring Preparat Histopatologi Hepar dan Limpa	60
3.7 Analisis Data.....	62
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar	64
4.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.) terhadap Jumlah Megakaryosit di Limpa	82
 BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	89
5.2 Saran.....	89
 DAFTAR PUSTAKA	90
LAMPIRAN	103

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Karakteristik alpukat hijau panjang dan hijau bundar	16
Tabel 2.2 Senyawa fitokimia dari daun, buah, dan biji alpukat	17
Tabel 3.1 Kriteria Penilaian Skoring Histopatologi Hepar	61
Tabel 4.1 Persentase dan hasil uji duncan skoring tingkat kerusakan histopatologi hepar menciit	64
Tabel 4.2 Persentase dan Rata-Rata Jumlah Megakaryosit di Limpa.....	82

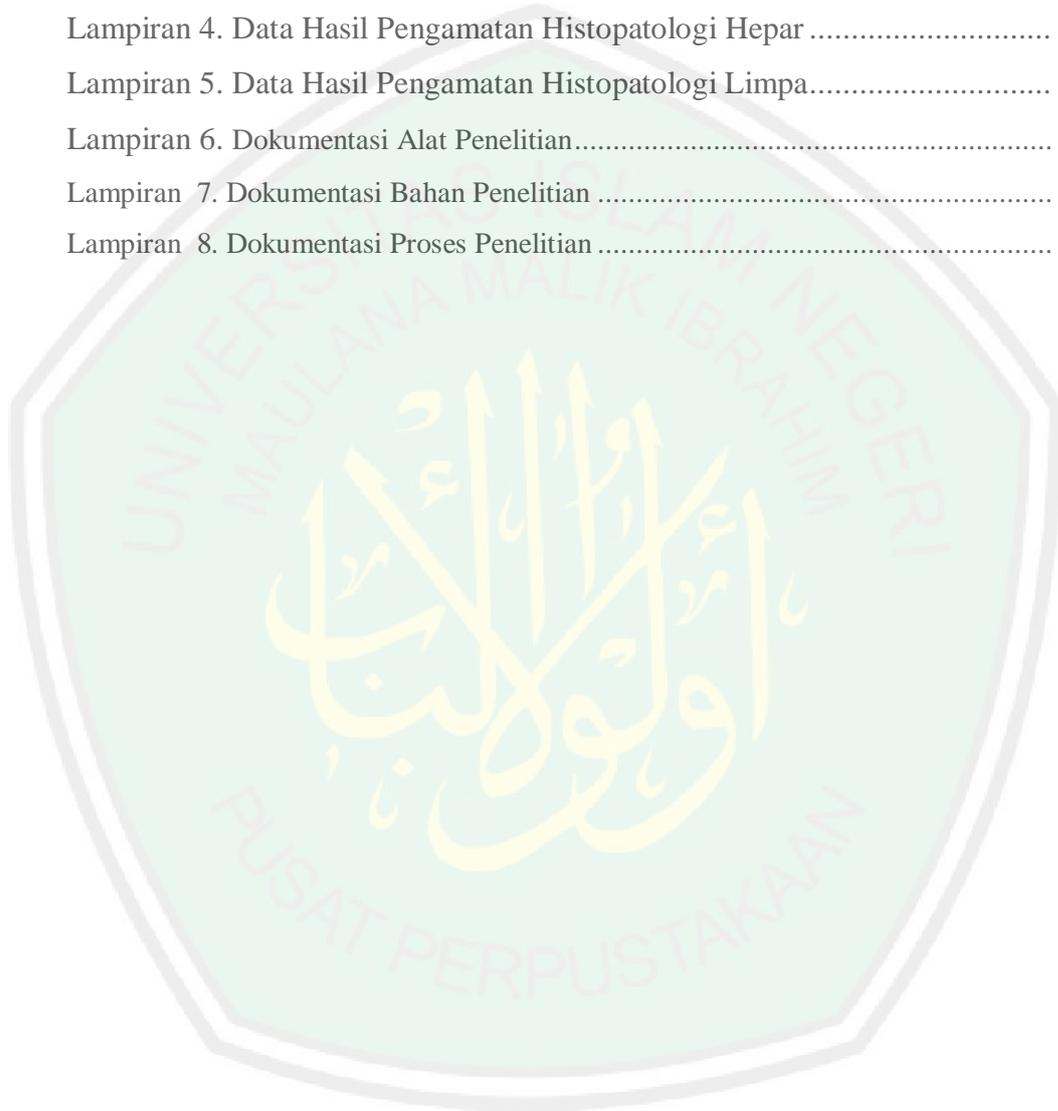


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Morfologi alpukat (<i>P. americana</i>)	14
Gambar 2.2. Faktor patogen <i>Staphylococcus aureus</i>	28
Gambar 2.3(a) Induksi betalaktam pada penisilin	31
Gambar 2.3(b) Mekanisme <i>S. aureus</i> resistensi methicilin.....	31
Gambar 2.4. Pengamatan mikroskopik hepar mencit	36
Gambar 2.5. Histologi limpa normal	41
Gambar 2.6. Megakaryosit	44
Gambar 4.1. Grafik rata-rata tingkat kerusakan histopatologi hepar	66
Gambar 4.2. Tingkat kerusakan histopatologi hepar mencit	67
Gambar 4.3. Grafik rata-rata jumlah megakaryosit di limpa.....	83
Gambar 4.4. Megakaryosit di limpa mencit	84

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian	103
Lampiran 2. Penentuan dan Perhitungan Dosis.....	104
Lampiran 3. Uji Konfirmasi <i>Staphylococcus aureus</i>	106
Lampiran 4. Data Hasil Pengamatan Histopatologi Hepar	108
Lampiran 5. Data Hasil Pengamatan Histopatologi Limpa.....	115
Lampiran 6. Dokumentasi Alat Penelitian.....	119
Lampiran 7. Dokumentasi Bahan Penelitian	122
Lampiran 8. Dokumentasi Proses Penelitian.....	124



ABSTRAK

Felistiani, Victy. 2017. **Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Limpa pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus***. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, (II) Umaiyatus Syarifah, M.A.

Kata Kunci: Antibakteri, antioksidan, biji alpukat, histopatologi hepar, histopatologi limpa, *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang bersifat invasif dan mampu menyebabkan berbagai penyakit termasuk sepsis. Setelah terjadi bakteremia, *S. aureus* dalam makrofag masuk ke dalam sirkulasi darah kemudian menyebar ke organ *Reticulo Endothelial System* terutama hepar dan limpa. Infeksi *S. aureus* menjadi serius karena meningkatnya resistensi terhadap antibiotik, sehingga penggunaannya menjadi tidak efektif dan mendorong pengobatan alternatif tanpa efek samping dari bahan alam salah satunya ialah biji alpukat yang mengandung flavonoid, saponin, dan alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan pada bakteri gram positif. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol biji alpukat terhadap gambaran histopatologi hepar dan limpa pada mencit yang diinfeksi *S. aureus*.

Penelitian ini bersifat eksperimental, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan yang terdiri dari normal (tanpa infeksi *S. aureus*, tanpa terapi), kontrol positif (infeksi *S. aureus*, terapi helixim dosis 200 mg/kg BB), P0 (infeksi *S. aureus*, tanpa terapi), P1 (infeksi *S. aureus*, terapi ekstrak etanol biji alpukat dosis 600 mg/kg BB), P2 (infeksi *S. aureus*, terapi ekstrak etanol biji alpukat dosis 1200 mg/kg BB). Analisis data menggunakan ANOVA dengan $\alpha=1\%$ untuk hepar dan $\alpha=5\%$ untuk limpa. Hasil yang signifikan dilanjutkan ke uji *Duncan*.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat berpengaruh terhadap histopatologi hepar ($p=0,001$). Adapun signifikansi dari uji *Duncan* menunjukkan bahwa P0 berbeda nyata dengan keempat perlakuan lain serta P1 dan P2 tidak berbeda nyata dengan perlakuan normal dan dengan kontrol positif. Adapun hasil uji ANOVA pada limpa menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat tidak berpengaruh terhadap histopatologi limpa ($p=0,263$).

ABSTRACT

Felistiani, Victy. 2017. Activity Test Ethanol Extract of Avocado (*Persea americana* Mill.) Seed On Histopathology Representative of Mice's (*Mus musculus*) Liver and Spleen infected by *Staphylococcus aureus*. Theses. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University (UIN) of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: (i) Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si, (II) Umaiatus Syarifah, MA

Keywords: Antibacterial, antioxidant, avocado seeds, liver histopathology, spleen histopathology, *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus is a gram-positive bacterium that is invasive and be able to cause various diseases, including sepsis. After bacteremia, *S. aureus* inside macrophages enter to the blood circulation then spread to other organs, especially the liver and spleen of Reticulo Endothelial System. *S. aureus* infection becomes serious because of increasing resistance to antibiotics, so its application becomes ineffective and increase alternative treatment from natural substances without the side effects, one of them is the avocado seed which contains flavonoids, saponins, and alkaloids that potential as an antibacterial and antioxidant on gram-positive bacteria. This study was conducted to determine the activity of the ethanolic extract of avocado seed on histopathology representative of mice's (*Mus musculus*) liver and spleen infected by *S. aureus*.

This study is experimental, using a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 5 replications consist of normal (without *S. aureus* infections, without therapy), positive control (*S. aureus* infection, helixim therapy), P0 (*S. aureus* infection, without therapy), P1 (*S. aureus* infections, extract therapy at dose of 600 mg/kg), P2 (*S. aureus* infection, extract therapy at dose 1200 mg/kg). Data analysis using ANOVA with $\alpha = 1\%$ for liver and $\alpha = 5\%$ for spleen. A significant result is continued to Duncan test.

ANOVA test results showed that the ethanolic extract of avocado seed effect on liver histopathology ($p = 0.001$). The significance of the Duncan test showed that P0 significantly different from other treatments, P2 and P1 not significantly different from the normal treatment and positive control. The results of the ANOVA on the spleen showed that the ethanolic extract of avocado seed had no effect on spleen histopathology ($p = 0.263$).

مستخلص البحث

فليستيان، فيكتي. 2017. اختبار نشاط مقتطف إيثانول نواة الأفوكادو (*Persea americana* Mill.) على تصورات أنسجة الكبد وطحال في الفئران (*Mus musculus*) العدوى *Staphylococcus aureus*. قسم الحياة كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة ريتنو سوسيلوواتي الماجستير، المشرفة الثانية: أمية الشريفة الماجستير.

الكلمات المفتاحية : ضد البكتيريا، ضد الأكسدة، نواة الأفوكادو، تصورات أنسجة الكبد، تصورات أنسجة الطحال، *Staphylococcus aureus*.

أن *Staphylococcus aureus* بكتيريا غرام الإيجابي الغازي تؤدي إلى عدة الأمراض منها sepsis . بعد وقوع تجرثم دم، أن *S. aureus* في الضامة يدخل إلى تدوير الدم وانتشار إلى العضو *Reticulo Endothelial System* خاصة في الكبد والطحال. أصبح العدوى *S. aureus* خطيرا لأجل ترقية المقاومة على ضد الأكسدة، وعلى هذا غير الفعالية واستخدام معالجة البدائل دون رجعية وهي نواة الأفوكادو تشمل الفلافونويد والصابونين والكالويد كضد البكتيريا والأكسدة. تقام الدراسة بمعرفة نشاط مقتطف إيثانول نواة الأفوكادو (*Persea americana* Mill.) على تصورات أنسجة الكبد وطحال في الزبابة البيضاء (*Mus musculus*) العدوى *Staphylococcus aureus*.

تستخدم الباحثة البحث التجري على خطة العشوائية الكاملة بخمس المعاملات والتكرارات منها الطبيعي (دون العدوى *Staphylococcus aureus* ودون العلاجي) والقبضة الإيجابية (العدوى *S. aureus* علاجي جرعة 200 mg/kg BB P0 (العدوى *S. aureus* دون العلاجي) P1 (العدوى علاجي مقتطف إيثانول نواة الأفوكادو جرعة 600 mg/kg BB P2 (العدوى علاجي مقتطف إيثانول نواة الأفوكادو جرعة 1200. أن تحليل البيانات المستخدمة ANOVA أن $\alpha=1\%$ عند الكبد و $\alpha=5\%$ عند طحال أن النتيجة على شكل ملحوظ ويلتحق بالاختبار *Duncan*.

تدل نتائج البحث إلى أن مقتطف إيثانول نواة الأفوكادو تؤدي إلى تصورات أنسجة الكبد ($p=0,001$). أما شكل من اختبار يدل إلى أن P0 يختلف بالمعاملة الرابع الأخرى و P1 و P2 لا يختلف بمعاملة الطبيعية والقبضة الإيجابية. أن نتيجة ANOVA في تدل إلى أن مقتطف إيثانول نواة الأفوكادو تؤدي إلى تصورات أنسجة الكبد ($p=0,263$).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sepsis merupakan penyebab penting morbiditas dan mortalitas pada manusia (Nielsen dkk., 2009) yang merupakan suatu kondisi klinis akut dan serius yang muncul sebagai akibat adanya infeksi mikroorganisme patogen atau toksinnya dalam aliran darah (bakteremia) (Irawan dkk., 2012). Sepsis tidak hanya terbatas pada darah, tapi dapat mempengaruhi seluruh tubuh, termasuk organ-organ yang ditandai dengan disfungsi organ. Angka kematian akibat sepsis berkisar antara 12-90% di seluruh dunia (Lokeshwar dkk., 2005) sedangkan di Indonesia kejadian sepsis berkisar antara 1,5-3,72%, dengan angka kematiannya berkisar antara 37,09-80% (Aulia dkk., 2003).

Penyebab utama sepsis menurut Nielsen dkk. (2009) adalah bakteri golongan *Staphylococcus*, termasuk *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang menimbulkan 50% kasus. Angka kejadian infeksi *Staphylococcus aureus* pada komunitas Asia berkisar pada angka 5-35% (Chen dan Huang, 2014). Sedangkan angka kejadiannya di Indonesia yakni 23,5% (Afifurrahman dkk., 2014).

Staphylococcus aureus sering ditemukan berkolonisasi sebagai flora normal pada kulit rongga hidung manusia (Brooks dkk., 2007). Diperkirakan 50% individu dewasa merupakan *carrier S. aureus*. Bersifat patogen oportunistik ketika sistem imun melemah yang disebabkan oleh perubahan hormon, penyakit

luka, menggunakan steroid atau obat lain yang mempengaruhi immunitas (Syahrurachman dkk., 1993). Karlina dkk. (2013) menjelaskan bahwa *S. aureus* dalam jumlah 10^5 cfu/ml berpotensi menghasilkan toksin.

Patogenitas *S. aureus* merupakan multifaktorial dari banyaknya faktor virulensi yang dimiliki *S. aureus*. Faktor virulensi meliputi struktur sel maupun produk toksin yang dikeluarkan oleh bakteri (Plata dkk., 2009) diantaranya yaitu tipe antigen permukaan, enzim degradasi, enterotoksin, leukosidin, dan hemolisin (eksotoksin) (Peacock dkk., 2002), serta koagulase (Sutra dan Poutrel, 1994). Karakter pigmen juga merupakan faktor virulensi pada *S. aureus* (Liu dkk., 2005).

Sepsis dimulai dari proses penempelan bakteri di dalam jaringan oleh faktor virulensi permukaan sel *S. aureus* seperti polisakarida kapsuler (*capsular polysaccharides, CPs*), *staphyloxanthin* (pigmen karotenoid) dan protein A yang berperan penting dalam penempelan bakteri pada jaringan (Ote dkk., 2011), mempromosikan kolonisasi dalam jaringan, dan ketahanan pada permukaan mukosa (Todar, 2005), serta mencegah fagositosis dari *antigen presenting cells* (APC) (Brooks dkk., 2007). Proses adhesi bakteri diperankan oleh beberapa komponen diantaranya protein A, protein fibronektin (*fnbA* dan *fnbB*) serta *clumping factor* (*clf*) (Sabat dkk., 2006).

Setelah bakteri berkolonisasi di dalam jaringan, *S. aureus* menghasilkan leukosidin yang membunuh sel darah putih sehingga bakteri dapat menyebar dalam jaringan dan eksotoksin yang menyebabkan kerusakan dengan cara mengganggu membran biologik sel inang (Todar, 1998).

Infeksi *S. aureus* dapat berupa radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung abses. Bila terjadi bakteremia, infeksi dapat bermetastasis ke berbagai organ (DeLeo dkk., 2009) dan mampu menimbulkan berbagai penyakit mulai dari infeksi superfisial hingga sepsis (Hu dkk., 2008). Dalam patogenesis infeksi, setelah terjadi bakteremia primer bakteri dalam makrofag masuk ke dalam sirkulasi darah selanjutnya menyebar ke organ retikuloendotelial terutama hepar dan limpa (Kusumaningrum, 2006). Menurut Anthony dan Kolthoff (1971), sistem retikuloendotelial merupakan jaringan pengikat retikular yang tersebar luas menyelubungi sinusoid-sinusoid darah di hepar, limpa, sumsum tulang, dan juga menyelubungi saluran-saluran limfe di jaringan limfatik, yang berkemampuan memfagositosis bakteri, virus, dan benda-benda asing, dan berkemampuan membuat zat-zat imun terhadap antigen.

Penelitian Nielsen dkk. (2009) membuktikan bahwa infeksi *S. aureus* dapat menyebar melalui aliran darah (bakteremia) dan menimbulkan mikroabses di berbagai organ (sepsis) seperti paru-paru, limpa, dan hepar. Terjadinya mikroabses di hepar disebabkan adanya sel-sel kupffer sedangkan di paru-paru disebabkan adanya *pulmonary intravascular macrophages* (PIM). Sedangkan kehadiran mikroabses di zona marginalis limpa dikaitkan dengan terjadinya sepsis bakteri *S. aureus* di organ ini.

Bagian hepar yang sering mengalami kerusakan akibat bahan toksik menurut Syahrizal (2008) adalah vena sentralis, sinusoid, dan hepatosit. Kerusakan hepatosit secara histologis meliputi terjadinya degenerasi, nekrosis, karioreksis, dan kariolisis. Panjaitan (2008) menjelaskan bahwa kerusakan

hepatosit secara histologis diawali dengan perubahan permeabilitas membran yang diikuti dengan kematian sel (nekrosis). Sedangkan perubahan histopatologi limpa akibat sepsis dapat diketahui dengan adanya peningkatan jumlah megakaryosit. Hal ini menandakan bahwa lesio yang terjadi adalah sistemik karena melalui peredaran darah (Dewi, 2008). Megakaryosit berfungsi sebagai prekursor eritroid dan prekursor semua granulosit besar (Ward dkk., 1999). Ketika terjadi perdarahan atau infeksi akut, jumlah platelet dalam darah akan meningkat. Hal ini memicu terbentuknya megakaryosit sebagai prekursor pembentukan platelet yang selanjutnya akan membentuk eritrosit sebagai respon adanya hemoragi. Platelet atau keping-keping darah berfungsi dalam proses pembentukan darah.

Infeksi *S. aureus* dalam penelitian ini dilakukan secara intraperitoneal agar lebih efektif dalam menginfeksi organ bagian dalam. Menurut Berata (1996), kemampuan invasi bakteri melalui rute intraperitoneal lebih cepat menimbulkan penyakit karena di daerah peritoneal banyak mengandung sel-sel PMN dan makrofag yang berperan sebagai pembawa bakteri untuk masuk di dalam sirkulasi darah umum. Sedangkan distribusi infeksi intravena ke semua tempat sangat cepat tetapi antigen mungkin lebih cepat didegradasi dalam aliran darah. Menurut Spector (1993), penyuntikan bakteri secara subkutan lebih lama dihilangkan dari daerah yang dipengaruhi.

Infeksi *S. aureus* menjadi masalah serius karena peningkatan resistensi bakteri ini terhadap berbagai jenis antibiotik. Hal ini disebabkan karena *S. aureus* memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa sehingga bisa resisten terhadap

banyak antibiotik (Afifurrahman dkk., 2014). Resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik tetrasiklin (53,3%), kloramfenikol (23,6%), ampisilin (18,1%), sefotaksim (6,6%), dan gentamisin (4,2%) (Refdanita dkk., 2001) serta penisilin (87,5%) dan amoksisilin (75,0%) (Rosalina, 2012). Terakhir golongan bakteri ini telah resisten terhadap *methicilin* sehingga terkenal dengan namanya sebagai *Methicilin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Saat ini diperkirakan sekitar 2-3% populasi umum telah terkolonisasi oleh MRSA (Wirahjasa dan Putu, 2012).

Pemberian antibiotik merupakan pengobatan utama dalam menanggulangi penyakit infeksi. Manfaat penggunaan antibiotik tidak diragukan lagi, akan tetapi dalam jumlah yang berlebihan dapat menyebabkan munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Borong, 2012). Resistensi terhadap antibiotik terjadi akibat hilangnya kepekaan bakteri terhadap antibiotik. Dengan adanya resistensi antibiotik maka kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain meningkat, termasuk antibiotik yang berasal dari tumbuhan.

Keberadaan tumbuh-tumbuhan merupakan berkah dan nikmat Allah SWT yang diberikan kepada seluruh makhluk-Nya. Tumbuhan termasuk dalam ciptaan Allah SWT yang memiliki manfaat yang sangat banyak seperti yang ditertulis dalam al-Quran surat asy-Syu'ara (26): 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (Q.S. Asy-Syu'ara (26): 7).

Kata “زوج” artinya warna, mengindikasikan aneka variasi atau ragam tumbuhan dan kata “كريم” memiliki arti baik dan mulia berasal dari kata “الكرام”

dalam bahasa arab artinya *الفضل* (keutamaan) yang bermakna tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Makna kata “*كريم*” memberikan suatu gambaran terhadap objek yang disifatinya, sehingga arti kalimatnya adalah tumbuhan yang baik (diartikan juga yang memiliki manfaat) bagi makhluk hidup dan tidak bersifat merugikan, termasuk di dalamnya adalah tanaman yang dimanfaatkan sebagai pengobatan (Al-Qarni, 2008).

Shihab (2002) menafsirkan bahwa ayat tersebut mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi dengan aneka tanah dan tumbuhannya serta aneka keajaiban yang terdapat pada tumbuh-tumbuhannya. Dalam ayat tersebut tersebut dijelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan segala tumbuhan di bumi ini dengan berbagai manfaat.

Beberapa studi eksperimental menunjukkan bahwa biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mempunyai kemampuan sebagai antimikroba (Dewi dan Sulistyowati, 2013) dan antioksidan (Sutrisna dkk., 2015). Menurut Arukwe dkk. (2012), hal ini disebabkan kandungan senyawa aktif dalam biji alpukat yang meliputi senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan fenol. Penelitian Anggrella (2014) menunjukkan bahwa zona hambat *S. aureus* yang terbentuk berupa nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) 0,2% dengan diameter sebesar 0,08% cm. Hal ini memperkuat pernyataan bahwa zat aktif dalam ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

Hendra dkk. (2014) melaporkan bahwa biji alpukat berpotensi sebagai hepatoprotektif, yaitu suatu senyawa yang dapat memberikan perlindungan pada

hepar dari kerusakan yang ditimbulkan toksin. Handoko (2005) menyatakan bahwa flavonoid memberikan aktivitas antioksidan dan berpengaruh dalam menghambat kerusakan hepar dengan cara mengikat radikal bebas sehingga dampaknya terhadap kerusakan hepar berkurang.

Hard dkk. (2003) menyatakan selain memiliki fungsi sebagai antioksidan, flavonoid juga dapat melindungi jaringan tubuh termasuk limpa. Zat warna alami berupa antosianin mampu mencegah dan memperbaiki berbagai jenis kerusakan jaringan (Tuminah, 2000) serta dapat menghambat terjadinya oksidasi sel sehingga mengurangi kerusakan sel hepar maupun sel limpa (Simanjuntak dkk., 2004).

Senyawa fenolik memberikan aktivitas antioksidan yang berperan sebagai donor hidrogen kepada radikal bebas sehingga menghasilkan radikal stabil yang berenergi rendah (Shahidi dan Nacz, 2004). Tanin sebagai antioksidan yang mampu mempengaruhi respon peradangan dengan aktivitasnya yang menghilangkan radikal bebas serta sebagai antibakteri yang mampu menghambat perkembangbiakan mikroorganisme dengan mengikat Fe yang dibutuhkan saat proses multiplikasi bakteri dalam jaringan (Rahayu, 2009). Tanin juga mampu menggugurkan toksin (Poeloengan, 2010) dan memperbaiki kerusakan jaringan termasuk limpa dengan memberikan atom hidrogen sehingga radikal bebas yang aktif menjadi kurang reaktif (Yulia, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti beranggapan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga dapat mengurangi kerusakan histopatologi hepar dan limpa pada mencit yang diinfeksi

S. aureus karena senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Penelitian Sutrisna dkk. (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% biji alpukat (*P. americana*) dapat menarik senyawa aktif seperti polifenol, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid, kuinon, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid sehingga dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 96%.

Pengamatan mikroskopis organ hepar dilakukan dengan menggunakan histopatologi skor. Derajat kerusakan dari setiap sampel ditentukan dengan cara menjumlah seluruh skor dari empat kriteria histopatologik dan dihitung reratanya sehingga didapatkan nilai untuk tiap perlakuan. Empat kriteria histopatologik tersebut mengacu pada *Scoring Histopathology Manja Roenigk* dari Sutrisna dkk. (2013). Sedangkan pada limpa yang diamati adalah jumlah sel megakaryosit sebagaimana penelitian yang telah dilakukan oleh Dewi (2008).

Dosis ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0 mg/kg BB, 600 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB yang didasarkan pada penelitian Sutrisna dkk. (2015). Hasil penelitian Sutrisna dkk. (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% biji alpukat (*P. americana*) pada dosis 600 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang terkena diabetes. Penderita diabetes menurut Anshori dkk. (2014) sangat mudah terinfeksi bakteri dan menjadi tempat yang optimal untuk pertumbuhan bakteri sehingga pada penderita diabetes sering mengalami komplikasi berupa infeksi bakteri khususnya *S. aureus*. Komplikasi dapat terjadi karena *S. aureus* dapat berinvasi ke berbagai organ dengan kemampuannya bermestasis melalui peredaran darah menyebabkan bakteremia sampai terjadi

sepsis. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan dosis ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) berdasarkan penelitian Sutrisna dkk. (2015) yaitu sebesar 600 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa sehingga dapat membandingkan apakah dosis tersebut dapat juga berpotensi menurunkan kerusakan hepar dan limpa. Berdasarkan latar belakang tersebut, diharapkan biji alpukat (*P. americana*) dapat digunakan sebagai obat alternatif khususnya dalam menghambat perkembangbiakan bakteri sehingga dapat mengurangi kerusakan histopatologi hepar dan limpa.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) terhadap gambaran histopatologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*?
2. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) terhadap gambaran histopatologi limpa pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*?

1.3. Tujuan

Tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) terhadap gambaran histopatologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*.

2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) terhadap gambaran histopatologi limpa pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*.

1.4. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. H_0 = Pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*.

H_1 = Pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi hepar pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*.

2. H_0 = Pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologi limpa pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*.

H_1 = Pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana* Mill.) berpengaruh terhadap gambaran histopatologi limpa pada mencit (*Mus musculus*) yang diinfeksi *S. aureus*.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Berpartisipasi dalam pengembangan dan kemajuan di bidang Ilmu Pengetahuan dan Teknologi khususnya dalam bidang Ilmu Biologi.

2. Dapat digunakan sebagai landasan ilmiah untuk penelitian selanjutnya.
3. Memberikan informasi untuk pengembangan obat baru dari biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap infeksi *S. aureus*.

1.6. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Parameter yang diamati secara histologis pada sampel organ hepar adalah meliputi jumlah hepatosit normal, degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Sedangkan pada sampel organ limpa adalah jumlah sel megakaryosit.
2. Biji alpukat yang digunakan berasal dari perkebunan alpukat di Dusun Sidolegi Desa Pangklungan Kec. Wonosalam, Jombang.
3. Varietas alpukat yang digunakan adalah hijau panjang.
4. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96% yang dibuat dalam 2 dosis yaitu 600 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB.
5. Pemberian ekstrak biji dilakukan secara oral menggunakan sonde lambung.
6. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*).
7. Kriteria hewan coba:
 - a. Mencit galur Balb/c
 - b. Jenis kelamin jantan
 - c. Berat badan 20-25 gram
 - d. Usia sekitar 2 bulan
 - e. Mencit dalam keadaan sehat

8. Bakteri yang digunakan adalah isolat *Staphylococcus aureus* strain MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya.
9. Injeksi bakteri dilakukan secara intraperitoneal.
10. Perlakuan yang diberikan bersifat kuratif.
11. Antibiotik yang digunakan adalah helixim.
12. Metode yang digunakan adalah *in vivo*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alpukat (*Persea americana* Mill.) yang termasuk dalam famili tumbuhan Lauraceae yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis (Katja dkk., 2009). Buah ini merupakan salah satu jenis buah yang digemari masyarakat karena selain rasanya yang enak juga mengandung antioksidan yang tinggi (Afrianti, 2010). Namun demikian, biji alpukat yang merupakan salah satu hasil ikutan produk pertanian belum dimanfaatkan (Dewi dan Sulistyowati, 2013).

Manfaat yang dimiliki oleh tumbuhan sangat banyak sesuai dengan keanekaragaman tumbuhan, dan manfaat tersebut tidak diciptakan oleh Allah SWT dengan sia-sia. Allah SWT menciptakan sesuatu karena ada maksud dan tujuan yang bermanfaat bagi kehidupan makhluknya. Dalam potongan ayat al-Quran surat Ali 'Imran (3): 191, “ما خلقت هذا باطلا” dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu ini tidak dengan sia-sia, tetapi penuh dengan manfaat dan kebenaran (Thabari, 2008).

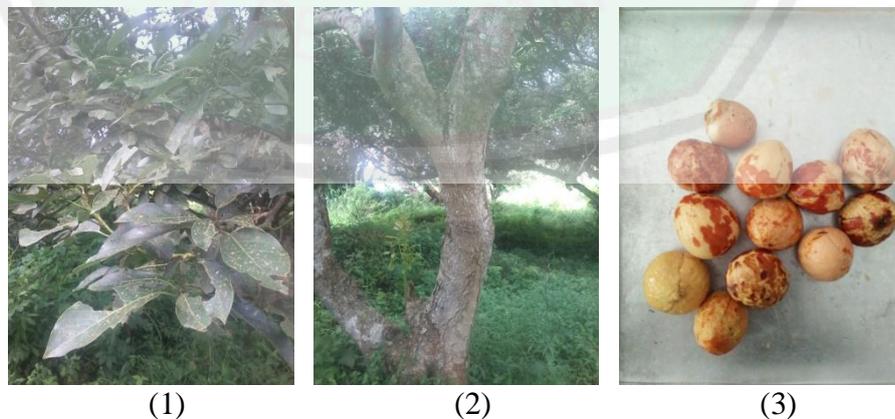
2.1.1 Morfologi *Persea americana* Mill.

Tanaman alpukat berupa pohon dengan ketinggian 3-10 m, rating tegak dan berambut halus, daun berdesakan di ujung ranting, bentuk bulat telur atau corong, awalnya berbulu pada kedua belah permukaannya dan lama-kelamaan menjadi licin. Bunga alpukat berupa malai dan terletak di dekat ujung ranting, bunganya sangat banyak berdiameter 1-1,5 cm, berwarna kekuningan, berbulu halus dan

benang sari dalam 4 karangan, buah alpukat berbentuk bola lampu sampai bulat telur, berwarna hijau kekuningan berbintik ungu, gundul/halus dan harum, biji berbentuk bola dan hanya terdapat satu biji dalam 1 buah (Handayani dan Citra, 2009).

Buah alpukat termasuk buah buni, berbentuk bola atau buah peer, panjang 5-20 cm, berbiji 1, tanpa sisa bunga yang tinggal, berwarna hijau atau hijau kuning, keungu-unguan atau berbintik-bintik, dan gundul. Biji pada buah alpukat berbentuk bola dengan garis tengah 2,5-5 cm (Steenis, 2003). Biji alpukat terdiri dari 65% daging buah (mesokarp), 20% biji (endokarp), dan 15% kulit buah (perikarp) (Prasetyowati dkk., 2010).

Pohon alpukat yang berukuran besar mampu menghasilkan jutaan bunga dalam semusim. Bunga tersebut muncul di ujung tunas. Bunga betinanya tunggal, dengan tangkai sari panjang dan diakhiri dengan kepala sari yang membesar. Benang sari berjumlah 9 yang tumbuh dari 2 lingkaran tempat kedudukan. Lingkaran tempat kedudukan sebelah dalam (*inner stamen*) mempunyai 3 benang sari sedangkan yang luar (*outer stamen*) mempunyai 6 (Ashari, 2004).



(1) (2) (3)

Gambar 2.1 Morfologi *Persea americana* Mill.

(a). Daun (b). Batang dan (c). Biji

(Sumber: dokumentasi pribadi)

2.1.2 Klasifikasi *Persea americana* Mill.

Kedudukan tanaman alpukat dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Ranales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill. (Dasuki, 1991).

Alpukat terdiri dari berbagai jenis berdasarkan klasifikasi varietas. Berdasarkan sifat ekologis, alpukat terdiri dari 3 jenis keturunan/ras, yaitu ras Meksiko, ras Guatemala, dan ras Hindia Barat (Chandra dkk, 2013). Banyaknya varietas dari alpukat ini merupakan salah satu contoh bahwa satu tumbuhan memiliki berbagai macam jenis hal ini sesuai dengan penjelasan al-Quran surat Thahaa (20): 53.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ
أَنْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Q.S. Thahaa (20): 53).

Kata شَتَّى menjadi kata sifat bagi kata ازواجا maksudnya adalah yang berbeda-beda warna dan rasa serta meliputi perbedaan lainnya. Kata شَتَّى ini merupakan

bentuk jamak dari kata شتيت, wazannya sama dengan kata مرضي. Kata شتّي berasal dari kata kerja yang artinya تفرّق atau berbeda-beda, sehingga arti keseluruhan dari kalimat “ازواجمن نبات شتّي” adalah macam-macam tumbuhan berdasarkan bentuk, warna, maupun rasanya (Asy-Syuyuthi, 1990). Penjelasan tersebut menunjukkan bahwa tiap tumbuhan memiliki perbedaan masing-masing walaupun pada jenis yang sama sebagaimana alpukat (*P. americana*) yang terdiri dari beberapa varietas seperti di Indonesia terdiri dari dua golongan varietas biji alpukat (Lianti, 2014):

1. Varietas Unggul

Sifat-sifat unggul tersebut antara lain produksinya tinggi, toleran terhadap hama dan penyakit, buah seragam berbentuk oval dan berukuran sedang, daging buah berkualitas baik dan tidak berserat, berbiji kecil melekat pada rongga biji, serta kulit buahnya licin. Sampai dengan tanggal 14 Januari 1987, Menteri Pertanian telah menetapkan 2 varietas alpukat unggul, yaitu alpukat hijau panjang dan hijau bundar. Karakteristik alpukat hijau panjang dan hijau bundar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2.1. Karakteristik Alpukat Hijau Panjang dan Hijau Bundar.

Karakteristik	Alpukat Hijau Panjang	Alpukat Hijau Bundar
Tinggi pohon	5-8 m	6-8 m
Bentuk daun	Bulat panang dengan tepi rata	Bulat panjang dengan tepi berombak
Masa berbuah	Terus-menerus, tergantung pada lokasi dan kesuburan lahan	Terus-menerus, tergantung pada lokasi dan kesuburan lahan
Berat buah	0,3-0,5 kg	0,3-0,4 kg
Bentuk buah	Pear (<i>pyriform</i>)	Lonjong
Rasa buah	Enak, gurih, agak lunak	Enak, gurih, agak kering
Diameter buah	6,5-10 cm (rata-rata 8 cm)	7,5 cm
Panjang buah	11,5-18 cm (rata-rata 14 cm)	9 cm
Hasil	40-80 kg/pohon/tahun (rata-rata 50 kg)	20-60 kg/pohon/tahun (rata-rata 30 kg)

Sumber : Lianti (2014).

2. Varietas Lain

Varietas alpukat kelompok ini merupakan plasma nutfah Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi, Tlekung, Malang, seperti alpukat merah panjang, merah bundar, dickson, butler, winslowson, benik, puebla, furete, collinson, waldin, ganter, mexcola, duke, ryan, leucadia, queen dan edranol.

2.1.3 Kandungan Fitokimia dan Manfaat *Persea americana* Mill.

Kandungan fitokimia merupakan senyawa-senyawa aktif pada tumbuhan memiliki ciri, cita rasa, warna, dan aroma yang khas (Patel, 2013). Biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung beberapa senyawa aktif diantaranya polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tanin, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid (Zuhrotun, 2007). Adapun kandungan fitokimia biji alpukat secara lengkap dijelaskan oleh Arukwe dkk (2012) pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Senyawa fitokimia dari daun, buah, dan biji alpukat (mg/100g)

Konstituen	Daun	Buah	Biji
Saponin	1.29±0.08	0.14±0.01	19.21±2.81
Tanin	0.68±0.06	0.12±0.03	0.24±0.12
Flavonoid	8.11±0.14	4.25±0.16	1.90±0.07
Glikosida sianogen	ND	ND	0.06±0.02
Alkaloid	0.51± 0.21	0.14±0.00	0.72±0.12
Fenol	3.41± 0.64	2.94±0.13	6.14±1.28
Steroid	1.21±0.14	1.88±0.19	0.09±0.00

Sumber : Arukwe dkk. (2012)

Keterangan ND = *not detected* (tidak terdeteksi)

Kandungan biji alpukat tersebut memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai obat tradisional untuk pengobatan seperti sariawan, kencing batu, darah tinggi, kulit muka kering, sakit gigi, bengkak karena peradangan, dan kencing manis (Perry, 1987; Wijayakesuma, 1996). Daun alpukat dilaporkan bersifat antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri seperti

Staphylococcus aureus strain A dan B, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas sp.*, *Proteus sp.*, *Escherichiae sp.*, dan *Bacillus subtilis* (Wijayakesuma, 1996).

Kandungan flavonoid dalam buah alpukat diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang cukup kuat dan membantu melindungi organ dari agen toksik atau stress oksidatif (Lukacinova dkk., 2008 dalam Sutrisna dkk., 2015). Disamping sebagai antioksidan yang mencegah kerusakan sel akibat oksidatif, flavonoid juga diduga punya aktivitas sebagai antikanker (Salah dkk., 1995). Kandungan flavonid dalam biji alpukat tersebut berkisar $1,90 \pm 0,07$ mg/100g (Arukwe dkk., 2012). Penelitian oleh Song dan Barlow (2004) menyatakan bahwa dalam biji alpukat ditemukan kandungan fenol lebih dari 70%. Dan senyawa ini diduga mempunyai efek antioksidan. Senyawa fenol dalam biji ditemukan lebih besar dibanding dalam buah maupun daun (Arukwe dkk., 2012).

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai bakteriostatik dengan cara merusak membran sitoplasma (Robinson 1995). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik dan mekanisme kerjanya mendenaturasi protein sel bakteri dan dapat merusak membran sitoplasma (Pelczar dkk. 1996). Sementara menurut Ajizah (2007) tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel.

Penelitian mengenai tanaman alpukat menunjukkan bahwa buah dan daun alpukat (*Persea americana*) memiliki khasiat untuk menurunkan kadar kolesterol total serta memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan biji alpukat digunakan sebagai obat di Nigeria dalam mengobati orang yang bertekanan darah tinggi (Ozolua dkk., 2009). Biji alpukat diketahui memiliki efek

hipoglikemik dan dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit gigi, maag kronis, hipertensi, dan diabetes mellitus (Monica, 2006). Selain itu, biji alpukat juga banyak digunakan sebagai sumber fitoterapeutik untuk mengatasi infeksi parasit dan mikosis. Diketahui biji alpukat mengandung senyawa fitosterol, triterpen, asam lemak, asam furanoik, dimer flavonol, proantosianidin, dan asam absisat. Beberapa senyawa tersebut telah terbukti memiliki aktivitas antifungi dan efek larvasidal (Leite dkk., 2009).

Ketika seseorang tertimpa penyakit sebagai bentuk ikhtiarnya adalah mencari obat-obatan yang bisa menyembuhkan penyakit yang diderita. Sesuai dengan hadits Nabi Muhammad SAW yang diriwayatkan Imam Muslim (2204):

لكل داء دواء فاذا اصاب الدواء الداء برا باذن الله عز وجل

“Setiap penyakit pasti memiliki obat. Bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanahu wa ta’ala.” (HR. Imam Muslim: 2204).

Kata لكل داء دواء memiliki arti bahwa setiap penyakit pasti obat yang sesuai dengan jenis penyakit tersebut. Namun, tentu saja kembali pada Allah SWT karena kuasa yang menyembuhkan penyakit hanyalah Allah SWT. Al-Jauziyah (1994) mengatakan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya adalah bersifat umum, mencakup segala penyakit dan segala macam obat yang dapat menyembuhkan penderita, karena sesungguhnya Allah telah menyiapkan segala macam obat untuk menyembuhkan penyakit.

2.1.4 Metode Ekstraksi Maserasi

Maserasi merupakan proses pemisahan yang paling sederhana dengan cara perendaman sampel dalam pelarut organik dan metode ini banyak digunakan

untuk mencari bahan obat yang berupa serbuk simplisia halus. Penekanan utama dalam maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi karena memaksimalkan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Voight, 1995).

Metode maserasi mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Voight, 1995). Kelemahan metode maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyaringannya kurang sempurna, pelarut yang digunakan lebih banyak (tidak efisien dan tidak efektif) dan tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraksm dan lilin (Meloan, 1999).

Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode maserasi dengan pelarut polar atau metanol. Pada prinsipnya metode maserasi adalah terdapat waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan bahan yang diekstrak, namun jarang sekali mencapai pemisahan yang sempurna karena senyawa yang sama bias terdapat dalam beberapa fraksi. Hasil maserasi maksimal biasanya dilakukan dengan maserasi menggunakan sederetan pelarut atau metode Charauxs-Paris yaitu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang berbeda

kepolaran, dimana ekstrak pekat pelarut polar diekstraksi kembali dengan pelarut semipolar dan pelarut non-polar (Kusnaeni, 2008).

Penguapan pada *rotary evaporator* dilakukan pada tekanan rendah atau dengan kenaikan temperatur dan kecepatan terbesar pada titik didih larutan. Cairan organik yang memiliki titik didih rendah, tekanan permukaan akan rendah. Labu evaporator dipanaskan pada temperatur tertentu di atas *waterbath* dan diputar selama evaporasi. Sehingga terjadi pencampuran yang sempurna, mencegah *bumping*, dan juga akan memiliki permukaan yang relatif lebih kuat. Pelarut menguap dari campuran kemudian terkondensasi oleh erlenmeyer dan jatuh pada labu penampung (Vogel, 1978).

Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi, sehingga banyak faktor yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut (Pelczar dan Chan, 1996). Terdapat dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut, yaitu pelarut yang harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak, dan titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat. Ekstraksi dengan pelarut tertentu didasarkan pada sifat kepolarannya zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, methanol, butanol, dan air. Sedangkan senyawa non-polar juga hanya akan larut pada pelarut non-polar, seperti heksana dan petroleum eter (Dwidjoseputro, 2005).

Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol yang mudah melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup rendah sehingga dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat *inert*, serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006). Selain itu, ketoksikannya rendah daripada pelarut alkohol lainnya yakni memiliki nilai LC_{50} 7060 mg/kg (Halimah, 2010).

Etanol merupakan senyawa alkohol dengan formula C_2H_5OH yang berbentuk cair, tidak berwarna, larut dalam air, eter, kloroform dan aseton yang dihasilkan dari peragian kanji, hidrolisis bromoetana dengan kalium hidroksida (Basri, 1996). Adanya gugus hidroksil (OH) pada alkohol memberikan sifat polar, sedangkan gugus alkil (R) merupakan gugus non polar. Proporsi dari kedua gugus tersebut merupakan faktor yang menentukan sifat alkohol (Estiasih dan Dwi, 2006).

Digunakan etanol bukan metanol karena antioksidan yang hendak diekstrak diharapkan dapat diaplikasikan pada produk makanan, minuman dan obat-obatan sehingga aman untuk dikonsumsi sedangkan metanol bersifat toksik. Etanol biasanya digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif yang bersifat antioksidan dan antibakteri pada suatu bahan. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa pelarut etanol lebih baik dari pada air, metanol maupun pelarut lain dalam mengekstraksi senyawa antioksidan maupun antibakteri (Dwidjoseputro, 2005).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan spesies dari genus *Staphylococcus* yang bersifat patogen oportunistik. Nama *Staphylococcus* berasal dari kata *staphylo* yang dalam bahasa Yunani berarti anggur, ini dikarenakan sifatnya yang membelah diri tidak hanya pada satu lapis permukaan dan tersusun bergerombol sehingga terlihat menyerupai rangkaian anggur (Jawetz dkk., 1996).

2.2.1 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri kelompok kokus gram positif. Sel *S. aureus* berbentuk bulat dengan diameter berkisar 1 μm , dapat hidup dalam lingkungan aerob ataupun anaerob dan berkelompok seperti anggur yang memungkinkan terbagi dalam berbagai bentuk (Brown dkk., 2005). *S. aureus* tidak motil, tidak membentuk spora dan paling cepat berkembang pada suhu 37°C. Suhu terbaik untuk menghasilkan pigmen berkisar 20-35°C. Pada medium padat koloni *S. aureus* berbentuk bulat, halus, meninggi, berkilau, dan berwarna abu-abu hingga kuning kecoklatan. Pigmen kuning yang dihasilkan cenderung menunjukkan sifat patogen dari bakteri ini (Brooks dkk., 2007).

Allah SWT berfirman dalam al-Quran surat al-Hijr (15): 21 mengenai penciptaan makhluk-makhluk renik yang secara implisit dapat diartikan bahwa bakteri termasuk ke dalamnya.

وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ ﴿٢١﴾

“Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu” (Q.S. Al-Hijr (15): 21).

Berdasarkan ayat tersebut terdapat kata “قدر” artinya ukuran dan “معلوم” yang berarti tertentu, keduanya merupakan صفة موصوف sehingga arti dari “معلوم” menggambarkan objek yang disifati “قدر”. Abdullah (2003) menjelaskan bahwa Allah SWT memberitahukan bahwa Dia adalah pemilik segala sesuatu dan sangat mudah bagi-Nya serta gudang segala sesuatu dengan segala macamnya itu berada di sisi-Nya. Sebagaimana ayat tersebut yang Allah SWT kehendaki dan inginkan sesuai dengan ukurannya masing-masing pada segala ciptaan-Nya itu mengandung hikmah besar serta rahmat bagi hamba-hamba-Nya.

Ukuran suatu ciptaan menyesuaikan dengan mekanisme atau fungsi dari sesuatu tersebut. Sebagaimana halnya bakteri yang berukuran renik atau mikroskopis yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tentu ukurannya ini menyesuaikan dengan fungsinya. Dalam hal ini bakteri *S. aureus* berfungsi sebagai bakteri normal yang berperan sebagai kompetitor patogen dan pengatur kondisi pH dalam jaringan. Ukurannya yang kecil ini mempermudah dalam proses adhesi ke dalam jaringan tubuh. Namun, *S. aureus* dalam kondisi tertentu bersifat patogen oportunitik yang dapat menyebabkan penyakit bagi tubuh.

Staphylococcus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang tergabung, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. Hal tersebut penting dalam patogenesis infeksi, yaitu merangsang pembentukan interleukin-1 (pirogen endogen) dan antibodi opsonik, juga dapat menjadi penarik kimia (kemotraktan)

leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktifitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Jawetz dkk., 1996).

Carter dan Wise (2004) melaporkan, bahwa peptidoglikan dan polimer polisakarida bersama asam teikoat membentuk dinding sel yang rigid, dalam hal ini asam teikoat berfungsi menghubungkan peptidoglikan dan antigen. Protein A termasuk dalam komponen permukaan pada kebanyakan *S. aureus* yang virulen. Mikrokapsul polisakarida pada beberapa galur *S. aureus* yang berfungsi sebagai antifagosit yang mempunyai kemampuan mencegah bakteri dari respon peradangan. Pada permukaan sel *S. aureus* juga terdapat pigmen karoten yang memberi warna orange atau kuning.

2.2.2 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Taksonomi *Staphylococcus aureus* menurut *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology* dalam Putera (2014) adalah:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Spesies : *Staphylococcus aureus*

Isolat klinis *Staphylococcus aureus* dapat diperoleh melalui usapan permukaan apus darah, aspirat trakea, cairan spiral untuk biakan dan tergantung pada lokalisasi proses. *S. aureus* memproduksi katalase, sehingga membedakannya dengan *Streptococcus*. Uji katalase dilakukan dengan

meneteskan larutan hidrogen peroksida pada permukaan bakteri. *S. aureus* bersifat koagulase positif yang artinya menghasilkan suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma, sehingga membedakannya dari *S. aureus* yang lain (Jawetz dkk., 2001).

2.2.3 Patogenesis Infeksi *Staphylococcus aureus*

Ciri khas yang disebabkan oleh infeksi *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Daya invasif yang rendah dari *S. aureus* dapat menyebabkan berbagai infeksi kulit seperti pioderma, jerawat, dan impetigo. Penyebaran melalui aliran darah dan sistem limfatik ke bagian tubuh lain menyebabkan bakterimia, endokarditis, osteomielitis, meningitis dan pneumonia (Brooks dkk., 2007).

Staphylococcus aureus mempunyai 4 karakteristik khusus, yaitu faktor virulensi yang menyebabkan penyakit berat pada *normal host*, faktor diferensiasi yang menyebabkan penyakit yang berbeda pada sisi atau tempat berbeda, faktor persisten bakteri pada lingkungan dan manusia yang membawa gejala karier, dan faktor resistensi terhadap berbagai antibiotik yang sebelumnya masih efektif (Spicer, 2000). *S. aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Jawetz, dkk., 2001).

Jawetz dkk. (2001) menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berbiak dan melalui pembentukan banyak zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin. Kemampuan patogenik dari galur *S. aureus* adalah pengaruh gabungan antara faktor ekstraseluler dan toksin

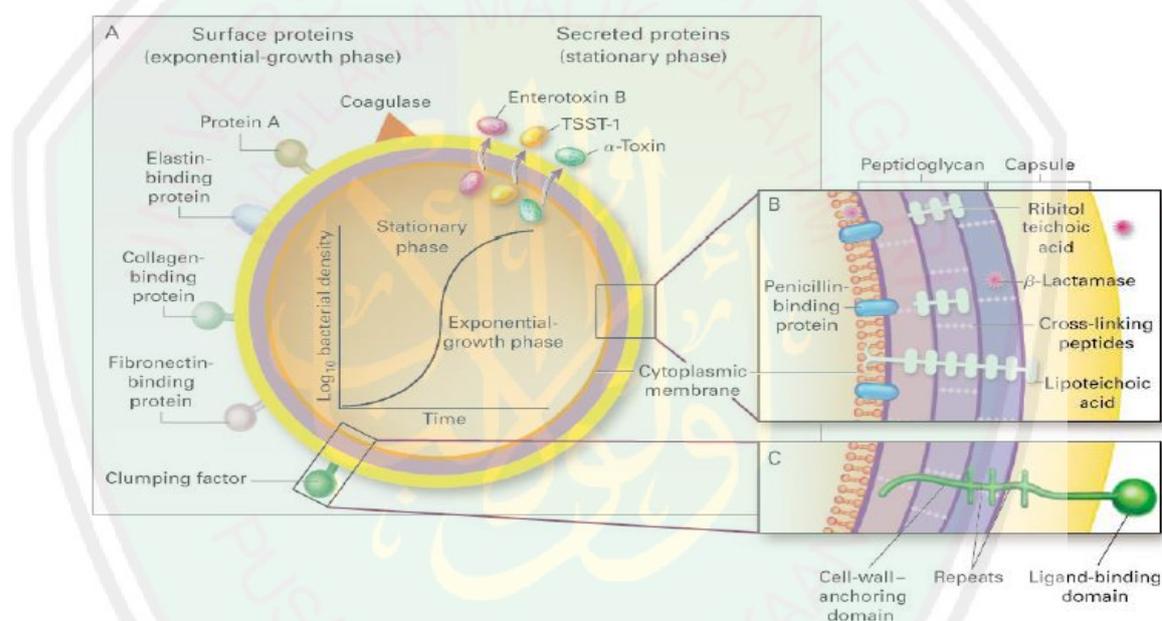
bersama dengan sifat daya sebar invasif. Pada satu sisi semata-mata diakibatkan oleh ingesti enterotoksin, pada sisi lain adalah bakterimia dan penyebaran abses pada berbagai organ. Peranan berbagai bahan ekstraselular pada patogenesis berasal dari masing-masing bahan tersebut.

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase atau faktor penggumpal pada dinding sel yang melekatkan organisme ke fibrin atau fibrinogen secara non enzimatik sehingga menyebabkan agregasi bakteri. Toksin yang dihasilkan *S. aureus* meliputi eksotoksin (α , β , γ , dan δ) yang mengganggu membran biologik; leukosidin yang membunuh sel darah putih; toksin eksfoliatif (toksin epidermolitik A dan B) yang menyebabkan deskuamasi generalisata pada *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*; enterotoksin (A-E, G-I, K-M) yang tahan terhadap panas serta resisten terhadap kerja enzim di usus, sehingga dapat menyebabkan keracunan makanan dan *Toxin Syndrome-Shock-Toxic-1* (TSST-1) (Brooks dkk., 2007).

Staphylococcus aureus menghasilkan tujuh tipe enterotoksin, yaitu: A, B, C, C1, C2, D, dan E (Nurwantoro, 2001). Faktor virulensi *S. aureus* yang dapat menyebabkan infeksi meliputi: 1. Protein permukaan yang mempromosikan kolonisasi dalam jaringan hospes (protein A, adhesin, hemaglutinin, glikoprotein, fibrinectin), 2. Invasin membantu bakteri menyebar dalam jaringan (*leukocidin*, *kinase*, *hyaluronidase*), 3. Faktor permukaan yang menghalangi fagositosis (kapsul, protein A), 4. Faktor biokimia yang meningkatkan ketahanan bakteri di dalam fagosit (*carotenoid*, produksi katalase), 5. Reaksi imunologis (protein A, *coagulase*, *clotting factor*), 6. Toksin perusak membran (*hemolysin*, *leukotoxin*,

leukocidin) dan 7. Eksotoksin dalam jaringan menimbulkan kerusakan dan gejala penyakit (SEA-G, TSST, ET) (Todar, 1998).

Staphylococcus aureus dilihat dari struktur antigeniknya memiliki polisakarida dan protein yang bersifat antigenik. Protein A salah satu komponen pada permukaan sel *S aureus* mempunyai kemampuan berikatan pada bagian Fc dari struktur IgG sehingga menghambat ikatan antara bagian Fc dari IgG dengan reseptor Fc di permukaan sel neutrofil dan makrofag (Jawetz dkk., 1996).



Gambar 2.2 Faktor patogen *Staphylococcus aureus* dengan berbagai metabolit yang berperan sebagai faktor viruensi, A. Beberapa protein yang dihasilkan *S. aureus*, B dan C. Bagian perlintasan (Gordon dan Lowy, 2008).

2.2.4 Pengobatan *Staphylococcus aureus* dan Resistensi Antibiotik

Pengobatan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui pemberian antibiotik, yang disertai dengan tindakan bedah, baik berupa pengeringan abses maupun nekrotomi. Pemberian antiseptik lokal sangat dibutuhkan untuk menangani furunkulosis (bisul) yang berulang. Pada infeksi

yang cukup berat, diperlukan pemberian antibiotik secara oral atau intravena, seperti penisilin, metisillin, sefalosporin, eritromisin, linkomisin, vankomisin, dan rifampisin. (Jawetz dkk., 2001).

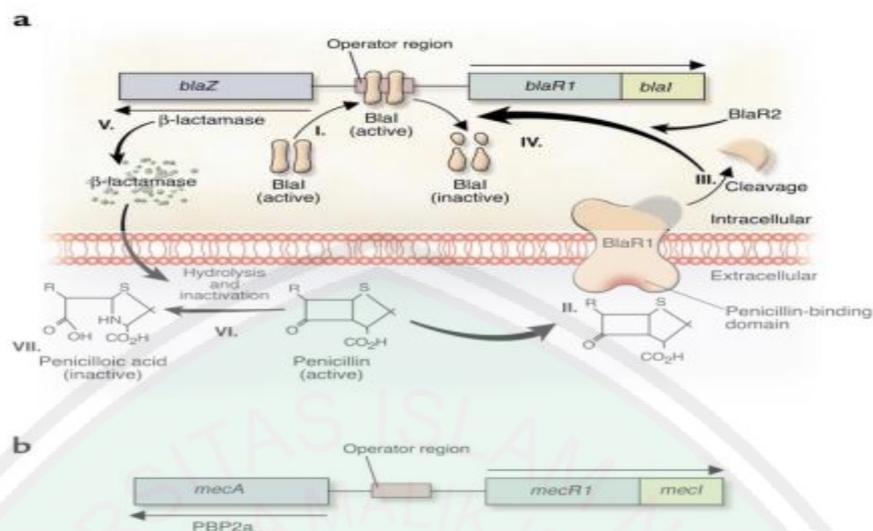
Pada era tahun 1940-an, masalah infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri ini berhasil diatasi dengan pemberian antibakteri golongan betalaktam yaitu penisilin. Antibakteri betalaktam mengikat *Penicillin Binding Protein* (PBP) yaitu suatu enzim peptidase membran yang mengkatalisis reaksi transpeptidasi pada proses sintesis dinding sel bakteri. Ikatan betalaktam pada situs aktif sering mengakibatkan PBP tidak aktif, sintesis dinding sel gagal dan bakteri mengalami lisis. *S. aureus* memiliki 4 macam PBP yaitu PBP 1 seberat 85 kDa (Kilo Dalton), PBP 2 seberat 81 kDa, PBP 3 seberat 75 kDa dan PBP 4 seberat 45 kDa. PBP 1, 2 dan 3 memiliki aktivitas transpeptidase dan memiliki afinitas sangat tinggi terhadap betalaktam, sehingga pemberian antibakteri betalaktam akan menyebabkan letal bagi *S. aureus* (Yuwono, 2010).

Keberhasilan terapi terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* tersebut tidak berlangsung lama karena kemudian muncul galur resisten yang mendapat plasmid yang mengandung gen *blaZ*. Gen *blaZ* menyandi enzim betalaktamase yaitu suatu enzim yang mampu mendegradasi penisilin dengan cara memecah cincin betalaktam. Pada akhir tahun 1950-an, masalah resistensi terhadap betalaktam ini dapat diatasi dengan pemberian antibakteri yang tahan terhadap betalaktamase yaitu metisilin. Isolat *S.aureus* yang peka terhadap metisilin disebut *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA). Sekitar 1 tahun setelah penggunaan metisilin di rumah sakit, masalah resistensi muncul kembali dengan ditemukannya

isolat *S. aureus* resisten metisilin yang disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di Inggris (Lowy, 1998).

Methicillin Resistant Staphylococcus aureus merupakan *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik tetrasiklin 53,3%, kloramfenikol 23,6%, ampicilin 18,1%, sefotaksim 6,6%, dan gentamisin 4,2% (Refdanita dkk., 2001). Sampai saat ini, MRSA secara umum merupakan suatu patogen nosokomial yang menyebabkan infeksi, baik dari rumah sakit (*Hospital Acquired MRSA* = HA-MRSA) maupun di komunitas (*Community-Acquired MRSA* = CA-MRSA) (Horowitz, 2005).

Eksperimen dan eksplorasi genetik menunjukkan bahwa mekanisme resistensi terhadap antibakteri betalaktam diperankan oleh operon *mecA*. Operon *mecA* yaitu gen yang menyandi PBP2a yang mendasari resistensi MRSA. PBP2a mempunyai afinitas yang sangat rendah terhadap antibiotik golongan β -laktam dikarenakan perubahan situs pengikatan, sehingga tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidase (Memmi dkk., 2008). Operon *mecA* secara organisasi, struktur, fungsi dan mekanisme serupa dengan operon *blaZ* pada plasmid *S. aureus* produsen betalaktamase. Regulator pada operon *blaZ* adalah *blaI* yang menyandi DNA binding protein berfungsi menekan transkripsi gen betalaktamase dan *blaR1* berupa *signal transduction* PBP yang akan menginduksi transkripsi jika ada betalaktam (gambar 2.2.4). Mekanisme ini analog dengan yang terjadi pada operon *mecA* yang dikendalikan oleh regulator *mecI* dan *mecRI* (Yuwono, 2010).



Gambar 2.3 (a) Induksi Betalaktam pada Penisilin, (b) Mekanisme *S. aureus* Resistensi Methicilin (Lowy, 2008).

2.3. Hepar

Hepar adalah organ terbesar dalam tubuh. Hepar mendapat darah dari vena porta dan arteri hepatica yang akan menyuplai 40-50% oksigen dan kurang lebih setengah dari darah yang bersirkulasi akan menuju hepar. Sebagian kecil darah dari arteri hepatica mengalir langsung masuk ke perpheral sinusoid (Jones dkk., 2006). Vena porta, arteri hepatica dan saluran empedu akan bergabung dalam satu daerah vena portis (segitiga Kiernaan). Empedu akan disalurkan dari hepar ke duodenum melalui saluran empedu intrahepatik dan ekstrahepatik (Guyton, 1997).

2.3.1 Anatomi Hepar

Hepar merupakan organ terbesar dalam tubuh. Hepar terletak di rongga perut di sebelah kanan, tepat di bawah diafragma, berwarna merah kecoklatan. Hepar terdiri dari beberapa lobus, tergantung pada spesiesnya (Harada dkk., 1999).

Hepar pada manusia memiliki berat 1200-1500 gram. Pada orang dewasa berat hepar kurang lebih satu per lima puluh berat badan, sedangkan pada bayi sedikit lebih besar per delapan belas berat badan. Hepar terbagi menjadi dua lobus kanan dan kiri. Kedua lobus tersebut dipisahkan oleh Ligamentum Falsiforme. Pada bagian inferior terdapat fisura untuk Ligamentus venosum (Maretnowati, 2004).

Permukaan hepar diliputi oleh peritoneum visceralis, kecuali daerah kecil pada permukaan posterior yang melekat langsung pada diafragma. Beberapa ligamentum yang merupakan lipatan peritoneum membantu menyokong hepar. Di bawah peritoneum terdapat jaringan penyambung padat yang dinamakan kapsula Glisson, yang meliputi seluruh permukaan organ; kapsula ini pada hilus atau porta hepatic di permukaan inferior melanjutkan diri ke dalam massa hepar, membentuk cabang-cabang vena porta, arteri hepatica, dan saluran empedu (Wilson, 1992).

2.3.2 Histologi Hepar

Unit fungsional dasar hepar adalah lobus hati, berbentuk silindris. Hepar terbagi menjadi beberapa lobus. Secara histologis lobus atau gelambir hepar dibalut oleh kapsula. Ada dua macam kapsula yaitu kapsula fibrosa (Glisson) dan kapsula serosa. Lobus hepar terdiri dari sel hepar (hepatosit). Sel hepar berbentuk polyhedral, berdiameter 20-25 mikron pada hewan dewasa, sedangkan pada hewan muda sekitar 2-7 mikron. Inti bulat terdapat di tengah-tengah dan kadang-kadang tampak lebih dari satu inti (Polimorfonuklear) (Hartono, 1992).

Di dalam septum juga terdapat vena porta kecil yang menerima darah terutama dari vena saluran pencernaan melalui vena porta. Darah dari vena ini

akan mengalir ke sinusoid hepar dan bercabang yang terletak diantara lempeng-lempeng hepar dan kemudian ke vena sentralis. Sirkulasi demikian menyebabkan sel hepar terus-menerus terpapar oleh darah vena porta. Selain vena porta juga terdapat arteriol hepar di dalam septum interlobularis. Sinusoid vena dan sel-sel hepar dilapisi oleh dua tipe sel yaitu sel endotel khusus dan sel Kupffer yang merupakan makrofag jaringan yang mampu memfagositosis bakteri dan benda asing lain dalam darah sinus hepatikus (Guyton 1997). Sel Kupffer merupakan makrofag spesifik dalam organ hepar yang berasal dari monosit (Dellman & Brown 1992).

Hepar merupakan organ yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hepatosit (sel parenkim hepar) merupakan bagian terbesar dari organ hati. Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Sel-sel ini terletak diantara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu. Sel Kupffer melapisi sinusoid hati dan merupakan bagian penting dari sistem retikuloendotelial tubuh (Pearce, 2009).

Menurut struktur dan fungsinya, lobulus hati dibagi menjadi tiga zona atau daerah yaitu daerah sentrolobuler, daerah tengah (midzonal) dan daerah periportal. Daerah sentrolobuler merupakan akhir dari mikrosirkulasi yang menerima darah dari pertukaran gas dan metabolit dengan sel-sel dari daerah tengah dan periportal. Hal ini menyebabkan daerah sentrolobuler lebih sensitif terhadap gangguan sirkulasi (iskemia, anoksia, kongesti) dan defisiensi nutrisi. Sebaliknya, daerah periportal dekat dengan pembuluh darah, menerima darah yang kaya O₂ dan nutrisi. Akan tetapi, apabila ada senyawa yang bersifat toksik dalam darah, maka

daerah ini akan terpapar terlebih dahulu. Hepatosit di daerah periportal mempunyai lebih banyak mitokondria sedangkan di daerah sentrolobuler mempunyai jumlah sitokrom p450 yang lebih banyak (Harada dkk., 1999).

2.3.3 Fungsi Hepar

Hepar adalah suatu organ yang besar, dapat meluas, dan organ venosa yang mampu bekerja sebagai suatu tempat penampang darah yang bermakna di saat volume darah berlebihan dan mampu mensuplai darah ekstra di saat kekurangan volume darah (Guyton, 1997).

Beberapa fungsi hepar menurut Ressay (1984) adalah:

- Sekresi empedu
- Metabolisme lemak
- Metabolisme zat telur
- Metabolisme hidrat arang
- Metabolisme besi
- Fungsi detoksifikasi
- Pembentukan sel darah merah
- Metabolisme dan penyimpanan penyakit

Hepar memiliki tiga fungsi yaitu fungsi vaskuler, fungsi metabolik serta fungsi sekresi dan ekskresi (Dellman dan Brown, 1992). Fungsi vaskuler berhubungan dengan proses penyimpanan dan penyaringan darah. Pada fungsi metabolik, sel hepar merupakan suatu tempat reaksi kimia dengan laju metabolisme yang tinggi. Kemudian juga tempat mengolah dan mensitosa berbagai zat yang diangkut ke daerah tubuh lain (Herdt, 2002). Sedangkan fungsi

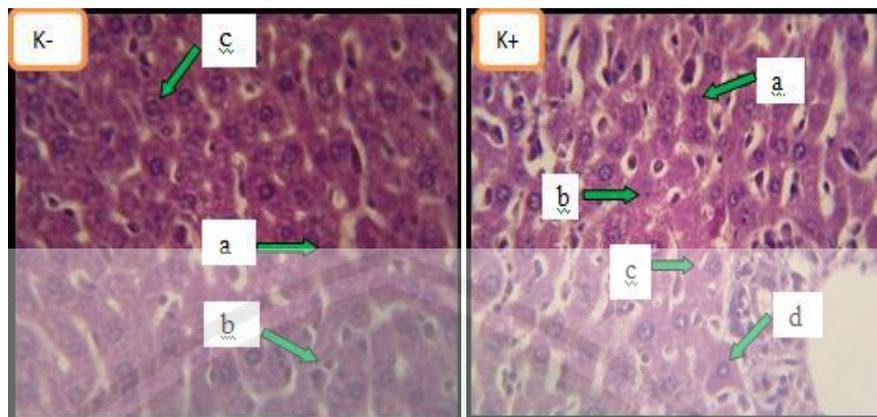
sekresi dan ekskresi berperan untuk produksi empedu yang mengalir melalui saluran empedu ke saluran pencernaan (Guyton, 1997).

Hepar berfungsi sebagai penawar racun, dengan cara memusnahkan atau menggendeng racun tersebut dengan senyawa lain sehingga sifat racunnya hilang atau melemah (Girindra, 1988). Sebagian besar bahan toksik memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal. Setelah terjadi proses penyerapan, bahan toksik tersebut dibawa oleh vena porta hepar ke hepar. Darah dipasok melalui vena porta dan arteri hepatika serta disalurkan melalui vena sentralis kemudian vena hepatika, hingga akhirnya ke dalam vena kava (Lu, 1995). Aliran darah yang membawa obat atau senyawa organik asing melewati sel-sel hepar secara perlahan-lahan (Siswandono dan Bambang, 1995).

2.3.4 Patologi Hepar

Organ hepar sering menjadi organ sasaran toksikan karena beberapa hal. Sebagian besar karena zat toksik memasuki tubuh melalui sistem gastrointestinal. Setelah diserap, toksik dibawa oleh vena porta ke hepar. Senyawa toksik dapat menyebabkan berbagai jenis efek toksik berbagai organel dalam sel hepar. Kelainan yang ditimbulkan akut, sub akut ataupun kronis (Lu, 1995).

Organ hepar memiliki kapasitas kemampuan yang tinggi dalam proses biotransformasi toksikan. Hepar berperan menghilangkan senyawa toksik dari darah setelah diabsorpsi pada saluran pencernaan, sehingga dapat dicegah distribusinya kebagian lain dari tubuh (Mukono, 2005).



Gambar 2.4 Pengamatan mikroskopik hepar mencit (*Mus musculus*) perbesaran 400x (a). Sel normal, (b). Sel nekrosis, (3). Sel degenerasi hidropik, dan (d). Sel degenerasi parenkimatosa (Zakinah, 2016).

Menurut Sarjadi (2003), perubahan struktur hepar akibat obat yang dapat tampak pada pemeriksaan mikroskopis antara lain:

1. Radang

Radang bukan suatu penyakit namun reaksi pertahanan tubuh melawan baerbagai jejas. Dengan mikroskop tampak kumpulan sel-sel fagosit berupa monosit dan polimorfonuklear.

2. Fibrosis

Fibrosis terjadi apabila kerusakan sel tanpa disertai regenerasi sel yang cukup. Kerusakan hepar secara makroskopis kemungkinan dapat berupa atrofi atau hipertrofi, tergantung kerusakan mikroskopis.

3. Degenerasi

Degenerasi adalah perubahan-perubahan morfologik akibat jejas-jejas non fatal dan perubahan-perubahan tersebut masih dapat pulih (reversibel). Tetapi apabila berjalan lama dan derajatnya berlebih, akhirnya mengakibatkan kematian sel (nekrosis). Pada sel yang mengalami degenerasi, perubahan morfologi yang sering dijumpai adalah penimbunan air dalam sel sehingga terjadi pembengkakan

sel (Price dan Wilson, 1992). Degenerasi dapat terjadi pada inti maupun sitoplasma. Degenerasi pada sitoplasma misalnya degenerasi perlemakan, parenkimatososa, hidropik, hialin, dan amiloid (Sarjadi, 2003):

- a. Perlemakan, ditandai dengan adanya penimbunan lemak dan parenkim hepar, dapat berupa bercak, zonal atau merata. Pada pengecatan inti terlihat terdesak ke tepi rongga sel terlihat kosong diakibatkan butir lemak yang larut pada saat pemrosesan.
- b. Degenerasi parenkimatososa adalah degenerasi yang paling ringan derajatnya, bersifat reversibel dikenal juga dengan degenerasi keruh, degenerasi albuminosa dan *cloudly swelling*. Ditandai dengan pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma akibat protein yang mengendap. Kerusakan hanya terjadi pada sebagian kecil struktur sel. Kerusakan ini menyebabkan oksidasi sel terganggu, sehingga proses eliminasi air pun juga terganggu mengakibatkan terjadinya penimbunan air di dalam sel.
- c. Degenerasi hidropik, degenerasi yang terjadi pada hepar dengan ciri-ciri sel hepar membengkak sampai dua kali normal. Bersifat reversibel dan sering disebut *blooming degeneration*. Derajat keparahannya lebih tinggi bila dibandingkan dengan degenerasi parenkimatososa. Memiliki gambaran yang khas yakni gambaran vakuola dari kecil sampai besar yang berisi air dan tidak mengandung lemak.
- d. Degenerasi hialin, termasuk degenerasi yang berat terjadi akumulasi material protein diantara jaringan ikat.

- e. Degenerasi amiloid, penimbunan amiloid pada *celas disse* sering terjadi akibat amiloidosis primer ataupun sekunder. Jenis degenerasi pada inti yaitu:
- i. Vakuolisasi, inti tampak membesar dan bergelembung serta kromatinnya jarang dan tidak eosinofilik.
 - ii. *Inclusion bodies*, terkadang terdapat pada inti sel hepar.

4. Nekrosis

Nekrosis adalah kematian sel atau jaringan pada organisme hidup. Inti sel yang mati dapat terlihat lebih kecil, kromatin dan serabut retikuler menjadi berlipat-lipat. Inti menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen – segmen (karioeksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik (kariolisis). Menurut Lu (1995), nekrosis adalah kematian sel hepatosit yang biasanya merupakan kerusakan akut. Ciri nekrosis ialah tampaknya sel disertai reaksi radang. Nekrosis merupakan tingkat lanjut dari degenerasi dan sifatnya *irreversible*.

2.4. Limpa

Tubuh makhluk hidup memiliki kemampuan melawan berbagai jenis organism atau toksik yang dapat merusak jaringan dan organ tubuh. Kemampuan ini disebut kekebalan yang merupakan hasil produksi dari jaringan limfoid di dalam tubuh (Guyton, 1997). Sistem jaringan limfoid dapat diklarifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu organ limfoid primer dan sekunder. Organ limfoid primer merupakan organ yang berfungsi mengatur produksi dan diferensiasi limfosit dan tempat pengaturan perkembangan limfosit. Sedangkan organ limfoid sekunder merupakan organ limfoid-antigen dan pengontrolannya (Tizard, 1988). Guyton (1997) mengelompokkan limpa sebagai salah satu organ limfoid

sekunder. Hartono (1989) menjelaskan bahwa limpa memiliki kapsula dan trabekula yang mengandung otot polos yang berperan memobilisasikan darah bila aktivitas fisiologik meningkat. Fungsi utama organ limfoid adalah melindungi organisme terhadap patogen atau antigen (bakteri, parasit, dan virus) yang masuk. Sistem limfoid mencakup semua sel, jaringan, dan organ yang mengandung kumpulan sel imun yaitu limfosit.

2.4.1 Anatomi Limpa

Limpa adalah organ limfoid terbesar dalam tubuh hewan dan banyak pembuluh darah. Limpa terletak di bagian kranial dari abdomen. Di sisi kiri lambung (Aughey dan Frye, 2001). Pada mencit limpa dibentuk dari mesenkim pada dorsal mesogastrikum (Ward dkk, 1999). Berdasarkan anatomisnya limpa pada mencit jantan 50% lebih besar daripada mencit betina (Malole dan Pramono, 1989).

Leeson (1989) menjelaskan bahwa limpa memiliki permukaan diafragmatik dan visceral, ujung superior dan inferior, serta batas anterior, posterior, dan inferior. Bagian punggung limpa memisahkan permukaan gastric (anterior) dengan permukaan renal (inferior). Pada bagian bawah, terdapat lengkungan, sebuah hilus, sebagai tempat pembuluh darah dan saraf. Ujung inferior rata dan berakhir pada flexura kiri colic. Ujung superior (apex) berhubungan langsung dengan tulang Thoracal 11. Batas anterior memisahkan diafragma dari permukaan gastric, batas posterior yang bulat memisahkan diafragma dengan permukaan renal dan batas inferior memisahkan diafragma dari permukaan colic. Jung pankreas dapat menyentuh limpa diantara permukaan colic dan hilus.

2.4.2 Histologi Limpa

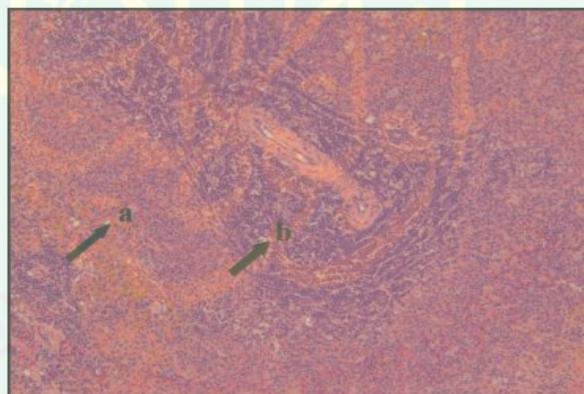
Limpa secara histologis terdiri dari stoma (kapsula dan trabekula) dan parenkim (pulpa limpa). Selain itu, juga terdiri dari banyak eritrosit dan leukosit serta sangat menyerupai kelenjar-kelenjar limfe. Leeson dkk. (1993) menjelaskan bahwa kapsul dari limpa dilapisi oleh serosa yang terdiri dari serat kolagen, serat elastin dan beberapa otot polos, sedangkan trabekula tebal yang mengandung cabang-cabang besar arteri dan vena splenikus (lienalis) berjalan dari kapsula ke bagian dalam organ. Diantara trabekula terdapat anyaman serat retikulin yang menunjang parenkim limpa. Ward dkk. (1999), parenkim limpa terdiri dari dua bagian yaitu pulpa merah dan pulpa putih yang merupakan komponen utama limpa.

Pulpa merah. Sebagian besar dari pulpa limpa berwarna merah dan mengandung banyak darah yang disimpan dalam jalinan retikuler. Pulpa merah terdiri dari arteriol pulpa, kapiler selubung serta kapiler terminal, sinus venous atau venula, dan bingkai limpa (Dellman dan Brown, 1992).

Pulpa putih. Pulpa putih terdapat di dalam pulpa merah berbentuk oval dan berwarna putih kelabu. Pulpa putih terdiri atas *periarteriolar lymphoid sheats* (PALS), folikel limfoid, dan zona marginal. Folikel limfoid umumnya tersusun atas sel limfosit B, makrofag, dan sel debris (Ward dkk., 1999). Pulpa putih terdiri atas jaringan limfoid yang menyelubungi arteri sentralis dan nodulus limfatikus yang ditambahkan pada selubung. Sel-sel limfoid yang mengelilingi arteri sentralis terutama adalah limfosit T. Nodulus limfatikus terutama terdiri dari limfosit B (Khasanah. 2009).

Zona marginal terletak di antara pulpa putih dan pulpa merah, bersifat fagositik (Aughey dan Frye, 2001). Zona marginalis menyimpan banyak antigen darah dan memegang peranan penting dalam aktivitas imunologik limpa (Junqueira dan Carneiro, 1989).

Daerah marginal. Pada permukaan pulpa putih, retikulum membentuk beberapa lapis konsentris, yang langsung berbatasan dengan lapis terakhir adalah daerah marginal. Di daerah ini banyak terdapat makrofag dan populasi limfosit khusus. Semua unsur dari sel darah, demikian juga antigen, mengadakan kontak dengan makrofag dan limfosit setempat. Partikel yang mengambang dalam plasma darah difagositosis secara efisien oleh makrofag, dan merupakan kondisi ideal untuk penampilan antigen (Dellman dan Brown, 1992).



Gambar 2.5 Histologi Limpa normal dengan perbesaran 400x (a) pulpa merah dan (b) pulpa putih (Junqueira dan Carneiro, 2005).

2.4.3 Fungsi Limpa

Fungsi utama limpa adalah menyimpan darah yang tidak ikut dalam peredaran darah. Pengeluaran darah dari limpa disebabkan oleh kontraksi alat tubuh yang dapat ditimbulkan oleh emosi, kekurangan zat asam (kenaikan kadar CO₂ darah, gerak badan ataupun kehilangan darah) dan pada perangsangan-

perangsangan nervus simpatikus pada umumnya (Ressang, 1984). Menurut Tizard (2004) dan Boyd (1962), limpa berfungsi menyaring darah dan sebagai tempat penyimpanan eritrosit dan trombosit serta melaksanakan eritropoiesis pada fetus. Karena itu, limpa terbagi atas dua bagian: satu bagian untuk menyimpan eritrosit, penjeratan antigen, dan eritropoiesis, yang disebut pulpa merah, dan bagian lain yang di dalamnya terjadi tanggap kebal yang disebut pulpa putih.

Fungsi lain limpa menurut Ressang (1984) adalah:

- Membentuk sel-sel darah putih yaitu limfosit, yang ada hubungannya dengan pembentukan globulin (antibodi)
- Pada hewan muda limpa ikut membentuk eritrosit bersama sumsum tulang
- Pembinaan eritrosit tua bersama dengan sumsum tulang dan sel *Reticulo Endothelial System* (RES) hati. Oleh sebab itu, limpa mengandung banyak lipid (kolesterol dan lesitin) dan besi. Hematin diubah limpa menjadi hemobilirubin
- Menjaring kuman-kuman dari darah. Hal ini karena limpa terdiri dari banyak sel-sel RES
- Ikut serta dalam metabolisme nitrogen terutama dalam pembentukan asam kemih.

2.4.4 Patologi Limpa

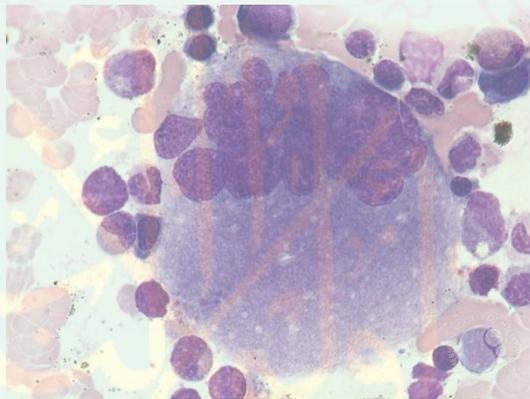
Perubahan ukuran, warna dan konsistensi limpa biasanya disebabkan oleh respon limpa terhadap benda asing yang dapat menimbulkan proses-proses reaktif, sehingga ketika diamati secara mikroskopis limpa terlihat membengkak. Infeksi

pada tubuh akan merangsang sel-sel limfosit dalam organ limfoid untuk membentuk antibodi (Sarjadi, 2003). Pembesaran limpa bisa diakibatkan oleh beberapa mekanisme yang berbeda, yaitu gangguan sirkulasi, penyakit inflamasi, penyakit metabolik dan neoplasia (Thomas, 1979). Perubahan patologi yang terjadi pada limpa dianggap berkenaan dengan bangunan trabekula, sinus pada pulpa merah dan pulpa putih, terutama pada kandungan darah, gambaran fibrosa, jumlah sel dan deposit lain.

Perubahan ukuran dan warna limpa dapat terlihat dengan pemeriksaan mikroskopis (histologis) pada sejumlah sel-sel darah yang banyak mengisi ruang limpa di sinus-sinus dan pulpa, serta pembuluh darah limpa yang membesar (hiperemi). Konsistensi limpa dapat menjadi keras dan ukurannya membesar oleh karena pertumbuhan jaringan retikulum dan hiperplasia sel serta pertumbuhan jaringan *Reticulo Endothelial System* (RES) sehingga menghasilkan sel-sel besar dan pucat yang mengisi sinusoid-sinusoid limpa maupun pada folikel limpa. Pada kondisi septisemia, terjadi pembesaran limpa dengan kongesti akut dan degenerasi dari folikel limfoid serta hiperseluler dari area sinus (Jubb dkk. 1993).

Sepsis akan menimbulkan lesio pada limpa, otak, dan gastrointestinal yang sangat khas berupa fokus nekrosa dengan infiltrasi sel mononuklear dan neutrofil (Smith dkk., 1974). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Dewi (2008), menjelaskan bahwa perubahan histopatologi limpa akibat sepsis dapat berupa deplesi pada folikel limfoid, adanya infiltrasi sel radang pada pulpa merah disertai deposisi protein radang, meningkatnya jumlah folikel limfoid dan megakaryosit.

Megakaryosit merupakan prekursor eritroid dan prekursor semua granulosit besar. Megakaryosit berfungsi sebagai prekursor pembentukan platelet yang nantinya akan membentuk eritrosit sebagai respon adanya hemoragi. Platelet atau keping-keping darah berfungsi dalam proses pembekuan darah. Jumlah platelet dalam peredaran darah perifer akan meningkat apabila terjadi perdarahan atau infeksi akut (Ward dkk., 1999). Widjajanto (2005), megakaryosit mudah dikenal karena merupakan sel yang besar (35-160 μm), bentuk tidak teratur, sitoplasmanya mengandung granula halus berwarna merah-ungu (Gambar 2.6).



Gambar 2.6 Megakaryosit (Maslak, 2011).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Pembagian perlakuan tersebut antara lain:

- Kontrol Normal: mencit jantan normal, tanpa infeksi *Staphylococcus aureus* dan tanpa pemberian terapi.
- K+ (kontrol antibiotik): mencit jantan normal, infeksi *Staphylococcus aureus* dan diberi terapi antibiotik helixim.
- P0 (perlakuan dosis 0): mencit jantan normal, infeksi *Staphylococcus aureus* tanpa pemberian terapi.
- P1 (perlakuan dosis 1): mencit jantan normal yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* dan diberi terapi ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 600 mg/kgBB.
- P2 (perlakuan dosis 2): mencit jantan normal yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* dan diberi terapi ekstrak etanol biji alpukat dengan dosis 1200 mg/kgBB.

3.2 Populasi dan Sampel

Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan strain *Balb/c* berumur 1-2 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Jurusan

Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penentuan jumlah minimal sampel yang dibutuhkan dihitung menggunakan rumus $(t-1)(n-1) \geq 15$ dengan t merupakan jumlah perlakuan dan n adalah jumlah sampel per kelompok. Pada penelitian ini, jumlah perlakuan adalah 5, sehingga besar sampel didapatkan dari nilai n sebagai berikut (Hanafiah, 1993):

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,75 = 5$$

3.3 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas

Pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.), infeksi *Staphylococcus aureus*.

2. Variabel terikat

Perubahan histopatologi hepar dan limpa mencit (*Mus musculus*).

3. Variabel kontrol

a. Jenis mencit :

Mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c, jantan, usia 8 hingga 12 minggu, berat badan 20-25 gram, gerak aktif dan bulu tidak rontok.

b. Cara pemeliharaan :

Mencit diadaptasikan selama 14 hari di Laboratorium Hewan Coba sebelum hari perlakuan hingga mencit mencapai berat badan berkisar 20-25 gram. Mencit diberi makan pelet SP serta minum air mineral secara *ad libitum*.

c. Perlakuan:

Teknik pemberian ekstrak biji alpukat secara oral, injeksi bakteri *Staphylococcus aureus* secara intraperitoneal.

3.4 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Juni 2017 mulai dari pemeliharaan hewan coba hingga pengamatan preparat histopatologi hepar dan limpa. Penelitian ini dilakukan di beberapa tempat, yaitu:

1. Laboratorium Fisiologi Tumbuhan UIN Malang untuk pembuatan ekstrak etanol 96% biji alpukat.
2. Laboratorium Mikrobiologi UIN Malang untuk peremajaan dan pengenceran isolat bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Laboratorium Hewan Coba UIN Malang untuk pemeliharaan dan pemberian terapi pada hewan coba.

4. Laboratorium Fisiologi Hewan sebagai tempat euthanasia hewan coba.
5. Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya untuk pembuatan preparat histopatologi hepar dan limpa hewan coba.
6. Laboratorium Optik UIN Malang untuk pengamatan preparat histopatologi hepar dan limpa hewan coba.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi *handglove*, masker, jas laboratorium, kandang bak plastik, tempat makan dan minum mencit, seperangkat alat bedah, alat dislokasi, *dysposable syringe* (jarum suntik) 1 ml, sonde lambung, sentrifus, mikropipet 100-1000 μ l, *blue tip*, *rotary evaporator*, *blender*, neraca analitik, timbangan, mikroskop, mikroskop komputer, kaca benda, kaca penutup, mikrotom, oven, botol untuk ekstraksi, tabung ependorf, *microtube*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlenmeyer, kertas saring, aluminium foil, *shaker inkubator*, *water bath*, pipet tetes, cawan petri, gelas ukur, gelas arloji, inkubator, *hot plate stirrer*, botol flakon, bunsen, jarum ose, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), vortex, gunting, pinset, spatula, corong kaca, spektrofotometer, gelas beker dan cuvet.

3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mencit (*Mus musculus*) Balb/C, pakan mencit SP, minum air mineral mencit, ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.), bakteri *Staphylococcus aureus*, media *Mannitol Salt Agar* (MSA), media *Luria Bertani Broth* (LB), plasma mencit, plasma

manusia, Helixim, etanol 96%, aquades, spiritus, kapas, alkohol 70%, larutan NaCl fisiologis 0,9%, sampel organ hepar dan limpa, bahan untuk *processing* jaringan (formalin 10%, alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, xylol, paraffin, larutan *propylene* murni), bahan untuk pengecatan HE (Xylol, alkohol 100%, 95%, 90%, 85%, 75%, Hematoxylin-Eosin), kertas label, plastik dan bahan untuk pengamatan mikroskopis (minyak emersi).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Aklimatisasi Hewan Coba

Sebelum dilakukan penelitian, terlebih dahulu disiapkan tempat pemeliharaan hewan coba meliputi kandang, serbuk kayu, tempat pakan, dan tempat minum. Kandang hewan coba dibersihkan setiap hari sejak dilakukan adaptasi hingga penelitian selesai. Sebanyak 25 ekor hewan coba diaklimatisasi di dalam laboratorium selama 14 hari dengan diberi pakan pellet SP dan minum air mineral secara *ad libitum* hingga tubuh hewan coba stabil dan memiliki berat badan 20-25 gram.

3.6.2 Persiapan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

1. Pengumpulan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Pada penelitian ini digunakan biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang diperoleh dari Perkebunan Alpukat di Dusun Sidolegi Desa Pangklungan Kecamatan Wonosalam Kabupaten Jombang. Varietas tanaman yang digunakan adalah alpukat (*Persea americana* Mill.) varietas hijau panjang.

2. Pembuatan Simplisia Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Biji alpukat (*P. americana*) sebanyak 1 kg dicuci dengan air mengalir kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 40-50°C sampai kering (kadar air hilang dengan berat simplisia konstan) . Simplisia yang sudah dikering kemudian dihaluskan menggunakan *blender* (Putri dkk, 2015).. Dari hasil pengeringan, ditimbang 500 gram simplisia biji alpukat (*P. americana*) kemudian dilakukan pengepakan dan penyimpanan di dalam plastik yang kering dan kedap udara.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Simplisia biji alpukat (*P. americana*) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan perbandingan 1:3. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% dengan pergantian pelarut setiap 24 jam sekali secara terus-menerus selama 3 hari. Kemudian ekstrak cair tersebut disaring dan dipekatkan filtratnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C (Putri dkk, 2015). Selanjutnya ekstrak diuapkan dalam oven pada suhu 55°C hingga mengental. Dalam penelitian ini dibutuhkan ekstrak kental biji alpukat (*P. americana*) sebanyak 10 gram.

3.6.3 Persiapan Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan dibungkus dengan kertas dan aluminium foil kemudian dimasukkan ke dalam plastik sebelum dilakukan sterilisasi. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (Hadioetomo, 1993).

2. Pembuatan Media

a. *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Pembuatan media *Mannitol Salt Agar* (MSA) mengacu pada Hadioetomo (1993), yaitu ditimbang media *Mannitol Salt Agar* (MSA) sebanyak 8,64 gram, kemudian dilarutkan dalam aquades 80 ml. Selanjutnya dipanaskan di atas *hot plate stirrer* selama 15 menit. Setelah homogen, disterilkan media dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Kemudian larutan didinginkan, dituang dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat.

b. *Luria Bertani Broth* (LB)

Pembuatan media *Luria Bertani Broth* mengacu pada Hadioetomo (1993), yaitu ditimbang media *Luria Bertani Broth* sebanyak 2,25 gram, kemudian dimasukkan dalam gelas beker dan dilarutkan ke dalam 90 ml aquades lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya larutan dihomogenkan dengan cara dipanaskan diatas *hot plate stirrer* selama 15 menit. Setelah homogen, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3. Pemiakan Bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Persiapan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dibiakkan pada cawan petri yang berisi media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 24 jam.

Persiapan Suspensi Uji *Staphylococcus aureus*

Persiapan suspensi uji bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran terlebih dahulu. Diambil 1 ose isolat bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades untuk membuat suspensi.

Selanjutnya dibuat seri pengenceran sampai 10^8 . Diambil 1 ml suspensi bakteri dari pengenceran 10^8 dan disebar di atas cawan petri kosong, kemudian ditambahkan media MSA hingga merata. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (metode *pour plate*).

Selanjutnya diambil 1 ml dari masing-masing seri pengenceran kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi media *Luria Bertani Broth* (LB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu dilanjutkan dengan spektrofotometri menggunakan panjang gelombang 600 nm untuk mengetahui konsentrasi *Staphylococcus aureus* sebesar 10^8 cfu/ml (sesuai standard *Mc. Farland* 0,5).

3.6.4 Injeksi dan Uji Konfirmasi *Staphylococcus aureus* pada Hewan Coba

Injeksi *Staphylococcus aureus* dilakukan setelah proses aklimatisasi yaitu pada hari ke 15 sesuai kelompok perlakuan. Dosis injeksi *Staphylococcus aureus* mengacu pada Nakamura (2013), yaitu sebesar 10^8 cfu/ml. Setelah didapatkan jumlah sel bakteri 10^8 sel/ml, tahap berikutnya dilakukan sentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 25°C . Pelet yang diperoleh diresuspensi dengan 1 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% steril. Suspensi yang diperoleh kemudian diinjeksikan pada hewan coba sebanyak 100 μl 1x secara intraperitoneal dan dilakukan uji konfirmasi (Mufidah dkk, 2013). Uji konfirmasi terdiri dari dua macam yang pertama uji media selektif dan kedua uji koagulase.

1. Uji Konfirmasi ke Media Selektif

Uji konfirmasi yang pertama bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri dan memastikan bahwa infeksi bakteri *S. aureus* sudah berada dalam aliran darah mencit (terjadi bakteremia). Uji konfirmasi dilakukan pada hari ke-2 setelah injeksi karena masa inkubasi *S. aureus* 2 x 24 jam (Kobayashi dkk., 2015). Uji konfirmasi diawali dengan pengambilan darah mencit sebanyak 0,2-0,3 ml (FK UGM, 2014). Tahap selanjutnya mengacu pada prosedur yang dimodifikasi dari penelitian Mufidah dkk (2013), yaitu dicairkan media *Mannitol Salt Agar* (MSA) di atas *hot plate stirrer*. Kemudian darah tersebut dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril (pengenceran 10^{-1}). Diambil 1 ml hasil pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan dalam cawan petri. Selanjutnya ditambahkan media MSA yang telah dicairkan dengan metode tuang (*pour plate*) ke dalam cawan petri kemudian diratakan.

Tahap selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah biakan diinkubasi, lalu dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna pada media MSA jika terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning berarti positif terdapat koloni bakteri *S. aureus* pada sampel darah mencit yang telah diinjeksi. Menurut (Dewi, 2013), *Staphylococcus aureus* pada media *mannitol salt agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning dikelilingi zona kuning keemasan karena kemampuan memfermentasi *mannitol*.

Dalam penelitian ini menunjukkan hasil positif ditemukan pada perlakuan kontrol positif (kontrol antibiotik), perlakuan P0 (Perlakuan dosis 0 mg/kg BB),

P1 (Perlakuan dosis 600 mg/kg BB), dan P2 (Perlakuan dosis 1200 mg/kg BB). Sedangkan pada perlakuan normal media MSA tidak mengalami perubahan warna tetap berwarna merah dan tidak ditemukan adanya koloni bakteri (Lampiran 3.1).

Koloni *S. aureus* pada pembenihan media padat menurut Todar (2002) dalam Dewi dkk. (2013) berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. *S. aureus* membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni berwarna kuning. Han dkk. (2000), menjelaskan bahwa bakteri yang memproduksi pigmen kuning atau orange lebih patogen dibanding bakteri yang memproduksi pigmen putih. Hal ini pula yang membedakannya dengan *S. epidermidis* yang memproduksi pigmen putih.

2. Uji Konfirmasi dengan Uji Koagulase

Koagulase merupakan suatu protein yang menyerupai enzim dan dapat menggumpalkan plasma oksalat atau sitrat dengan bantuan suatu faktor yang terdapat dalam banyak serum. *Staphylococcus aureus* menghasilkan koagulase yang bekerja sama dengan faktor serum untuk koagulasi plasma. Koagulase berperan pada pembentukan dinding fibrin sekeliling lesi *Staphylococcus*, yang membantu untuk bertahan dalam jaringan. Koagulase juga menyebabkan deposisi fibrin pada permukaan *Staphylococcus* yang memungkinkan melindungi bakteri dari fagositosis atau pengrusakan dalam sel fagosit (Jawetz dkk., 2001).

Uji koagulase bertujuan untuk membuktikan dan memperkuat hasil uji konfirmasi pertama bahwa bakteri yang menginfeksi mencit adalah *S. aureus*. Abrar (2001) dalam Dewi (2013) menjelaskan bahwa produksi koagulase adalah

kriteria yang paling umum digunakan untuk identifikasi *S. aureus* karena kemampuannya menghasilkan enzim koagulase.

Uji Koagulase dilakukan dengan metode uji tabung yang digunakan untuk mengetahui adanya koagulase bebas dengan cara 200 μ l plasma dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril. Sebanyak 3-4 koloni biakan *Staphylococcus aureus* (hasil uji yang pertama) ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dicampur. Selanjutnya, tabung dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada 4 jam pertama, dan sesudah 18-24 jam. Reaksi positif akan terjadi apabila terbentuk *clot* atau *jelly* dan ketika tabung dimiringkan *jelly* tetap berada di dasar tabung (Lay, 1994 dalam Dewi, 2013).

Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pembekuan plasma sehingga terbentuk gel yang tetap berada di dasar tabung ketika dimiringkan atau tabung dibalik. Pada penelitian ini hasil positif ditunjukkan pada perlakuan kontrol positif (kontrol antibiotik), perlakuan P0 (Perlakuan dosis 0 mg/kg BB), P1 (Perlakuan dosis 600 mg/kg BB), dan P2 (Perlakuan dosis 1200 mg/kg BB). Sedangkan pada perlakuan normal tidak terjadi pembekuan plasma (Lampiran 3.2). Reaksi koagulase positif ini yang membedakan *S. aureus* dengan *S. epidermidis* dan *S. saprophyticus* (Bruckler dkk., 1994 dalam Dewi dkk., 2013).

3.6.5 Pemberian Terapi Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Pemberian terapi ekstrak etanol biji alpukat pada mencit dilakukan pada hari ketiga setelah injeksi selama 9 hari secara per oral menggunakan sonde sebanyak 0,5 ml. Dosis terapi yang diberikan yaitu 600 mg/kg BB dan 1200 mg/kg BB yang

selanjutnya dikonversi sesuai dengan dosis mencit (Lampiran 2.1). Penentuan dosis yang digunakan mengacu pada penelitian Sutrisna dkk. (2015) bahwa dosis aman biji alpukat adalah 300 sampai 1200 mg/kgBB/hari.

3.6.6 Pemberian dan Penentuan Dosis Antibiotik Helixim

Pemberian helixim pada mencit dilakukan pada hari ketiga setelah injeksi selama 7 hari secara oral menggunakan sonde sebanyak 0,5 ml. Dosis helixim yang digunakan sebesar 200 mg/hari. Dosis ini dikonversikan ke mencit, dimana untuk manusia (70 kg) adalah setara dengan mengalikan dengan 0,0026 untuk 20 gram mencit. Dosis untuk 20 gram mencit = $200 \times 0,0026 = 0,52 \text{ mg/20gBB}$ (Lampiran 2.2).

3.6.7 Euthanasia dan Pengambilan Sampel Organ Hepar dan Organ Limpa Hewan Coba

Euthanasia hewan coba dilakukan setelah 7 hari pemberian terapi dengan metode dislokasi bagian leher, kemudian hewan coba diletakkan di atas papan bedah. Pembedahan dilakukan dengan membuat insisi di bagian abdomen dan diisolasi organ hepar dan limpa, kedua organ tersebut dikeluarkan menggunakan pinset anatomis dan dipotong ± 1 cm dengan gunting. Organ yang diambil dicuci dengan NaCl fisiologis 0,9% dan direndam ke dalam larutan formalin 10% untuk memfiksasi agar jaringan tidak rusak kemudian disimpan pada suhu ruang yaitu 25°C.

3.6.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar dan Limpa

Proses pembuatan preparat histopatologi mengacu pada Sari (2015), yaitu terdiri dari fiksasi, dehidrasi dan infiltrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi paraffin, penanaman (*embedding*), penyayatan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), penempelan/penutupan (*mounting*) dan *labeling*.

1. Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan cara memotong masing-masing organ hepar dan limpa, lalu dibilas menggunakan NaCl fisiologis 0,9% dan dibersihkan dari kotoran lalu direndam ke dalam larutan formalin 10%. Fiksasi bertujuan untuk mencegah kerusakan pada jaringan, menghentikan proses metabolisme dan menjaga keawetan jaringan yang akan digunakan sebagai preparat histologis.

2. Dehidrasi dan Infiltrasi

Dehidrasi dilakukan menggunakan larutan alkohol secara bertingkat yakni 70%, 80%, 90%, dan 95%. Jaringan organ hepar dan limpa direndam dalam alkohol selama 10 sampai 30 menit dalam kondisi teragitasi dan berada pada suhu 4°C. Proses dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan air sebanyak-banyaknya dari dalam jaringan. Sedangkan proses infiltrasi menggunakan larutan *propylene* murni, dilakukan dalam kondisi teragitasi pada suhu ruangan, dimana larutan tersebut didapat dari perbandingan bertingkat antara larutan etanol absolut dan *propylene oxide*. Selanjutnya proses infiltrasi dilakukan selama 30 menit untuk tiap tahapannya.

3. Penjernihan (*Clearing*)

Penjernihan dilakukan dengan cara memasukkan jaringan ke larutan penjernih yaitu xylol I dan xylol II masing-masing 1 jam, yakni 30 menit pada suhu kamar dan 30 menit pada inkubator. Penjernihan bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan agar dapat berikatan dengan parafin.

4. Infiltrasi Parafin

Infiltrasi parafin dilakukan dengan cara merendam jaringan ke dalam parafin cair I, parafin cair II, dan parafin cair III. Masing-masing perlakuan dilakukan selama 1 jam dalam inkubator bersuhu 58-60°C. Infiltrasi parafin bertujuan untuk menggantikan tempat dehidran dalam jaringan dan bahan penjernih dengan parafin cair.

5. Penanaman Jaringan (*Embedding*) dan *Sectioning*

Proses *embedding* adalah proses untuk mengeluarkan cairan penjernih dari jaringan yang kemudian diganti dengan parafin. Proses *embedding* dilakukan dengan mencelupkan jaringan dalam parafin cair yang telah dituang ke dalam cetakan berbentuk blok yang akan memadat. Cetakan tersebut dipasang pada penjepit (*blok holder*) mikrotom dan diatur agar posisinya sejajar dengan posisi pisau pemotong. Selanjutnya dilakukan pemotongan jaringan dimana pada awal pemotongan dilakukan *trimming* karena jaringan yang terpotong masih belum sempurna. Tiap blok parafin dipotong dengan ketebalan 4-5 mikron dan diletakkan pada gelas objek. Proses ini disebut *sectioning*. Setelah itu, diinkubasi dalam inkubator pada suhu 38-40°C selama lebih kurang 24 jam untuk pembuangan parafin lalu siap diwarnai dengan pewarnaan Hematoxilin-Eosin.

6. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE) dilakukan untuk melihat gambaran jaringan hepar dan limpa. Zat pewarna hematoxylin pada proses pewarnaan digunakan untuk memberi warna biru pada inti sel dan zat pewarna eosin digunakan untuk mewarnai sitoplasma serta jaringan penyambung menjadi merah muda. Pewarnaan diawali dengan deparafinasi menggunakan xylol I dan II, dilanjutkan dengan proses rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat 95%, 90%, 80% dan 70% secara berurutan masing-masing selama 5 menit. Preparat kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit lalu direndam dalam aquades selama 5 menit. Preparat diwarnai dengan pewarna hematoxylin selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 15 menit dan direndam dalam aquades selama 5 menit. Setelah itu preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air mengalir selama 15 menit dan air aquades selama 5 menit hingga preparat tidak mengalami kelebihan pewarna eosin. Setelah sediaan diwarnai, dilakukan proses dehidrasi menggunakan alkohol bertingkat 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama 5 menit dan dilanjutkan dengan alkohol absolut I, II, dan III masing-masing selama 5 menit. Setelah itu dilakukan proses *clearing* menggunakan xylol I dan II selama 5 menit, preparat dikeringanginkan. Langkah terakhir yakni perlakuan *mounting* menggunakan larutan entellan dan ditutup dengan gelas penutup (*cover glass*).

3.6.9 Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar dan Limpa

Pengamatan preparat histopatologi dilakukan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX51*. Preparat histopatologi hepar diamati dengan metode skoring tingkat kerusakan histopatologi hepar pada lima lapang pandang yang berbeda pada perbesaran 400x sesuai dengan metode *Skoring Histopathology Manja Roenigk* (Sutrisna dkk., 2013) sedangkan preparat histopatologi limpa diamati dengan sepuluh lapang pandang yang berbeda pada perbesaran 100x sesuai dengan penelitian Dewi (2008).

3.6.10 Skoring Preparat Histopatologi Hepar dan Limpa

1. Preparat Histopatologi Hepar

Kerusakan sel hepar ditentukan menggunakan skor gambaran histologis hepar modifikasi *Manja Roenigk*. Dari satu preparat histopatologi hepar diamati pada lima lapang pandang berbeda, tiap lapang pandang yang diamati 20 sel sehingga diperoleh 100 sel hepar dari satu preparat. Jumlah sel normal dikalikan 1, sel dengan degenerasi parenkimatososa dikalikan 2, sel dengan degenerasi hidropik dikalikan 3, dan sel nekrosis dikalikan 4. Seluruh skor dari 5 lapang pandang dijumlahkan dan dihitung reratanya, sehingga didapatkan nilai untuk 1 ulangan dalam setiap perlakuan. Penentuan kerusakan sel hepar dilakukan dengan cara mengamati tiap sel pada preparat hepar kemudian membandingkannya dengan gambar sel hepar normal dan sel yang mengalami kerusakan yang terdapat pada gambar literatur maupun gambar dari pengamatan preparat kontrol normal.

Berikut kriteria penilaian derajat histopatologi sel hepar metode *Skoring Histopathology Manja Roenigk* (Sutrisna dkk., 2013).

Tabel 3.1 Kriteria Penilaian Skoring Histopatologi Hepar *Manja Roenigk*.

Tingkat Perubahan	Nilai
Normal (tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen dan membran sel berbatas tegas)	1
Degenerasi parenkimatososa (tampak sitoplasma keruh karena terdapat endapan protein)	2
Degenerasi hidropik (tampak vakuola pada sitoplasma sel maupun di sekeliling inti sel)	3
Nekrosis (inti sel piknotik dan sitoplasma sel menggumpal)	4

Sumber : Sutrisna dkk (2013).

2. Preparat Histopatologi Limpa

Pengamatan pada limpa dilakukan untuk melihat respon adanya infeksi umum. Data kuantitatif diperoleh dengan menghitung jumlah megakaryosit di limpa pada sepuluh lapang pandang perbesaran 100x (Dewi, 2008). Untuk membedakan antara sel parenkim limpa dengan sel-sel limpa lainnya dipergunakan pedoman morfologi menurut Djaldeti dkk. (1972), Wintroube (1981) dan Lila (1983) dalam Widjajanto (2005) sebagai berikut:

1. Sel parenkim limpa merupakan sel berukuran besar berbentuk oval atau bulat. Sitoplasmanya sedikit dan berwarna keunguan, intinya besar berbentuk bulat atau oval dengan susunan retikulum yang halus, kepekatan warna inti lebih tipis dibanding sel darah.
2. Sel eritroid berukuran kecil sampai sedang (12-17 μ m), intinya berwarna gelap dengan kromatin yang kasar, sitoplasmanya bersifat polikromatofil atau asidofil.
3. Netrofil, eosinofil, dan basofil. Sel-sel ini mudah dikenal dari bentuk intinya dan granulanya yang spesifik.

4. Megakaryosit mudah dikenal karena merupakan sel yang besar (35-160 μm), bentuk tidak teratur, sitoplasmanya mengandung granula halus berwarna merah-ungu.
5. Monosit-makrofag. Makrofag sel berukuran sedang sampai besar (15-80 μm) sering dalam bentuk ameboid, intinya bulat atau lonjong.
6. Limfosit. Limfosit merupakan sel berukuran kecil sampai sedang (7 – 18 μm), intinya hampir memenuhi sel dengan kromatin yang padat dan berwarna gelap.
7. Mastosit. Mastosit mudah dikenal karena sifat granulanya yang metakromatik, ukurannya sangat bervariasi dari kecil sampai besar.
8. Sel limfoid. Sel limfoid adalah sel yang tidak dapat digolongkan ke dalam salah satu golongan tersebut di atas dan morfologinya menyerupai morfologi limfosit.

3.7 Analisis Data

Dalam penelitian ini akan diperoleh data dalam bentuk angka hasil perhitungan (kuantitatif) berupa jumlah megakaryosit limpa dan nilai skoring perubahan histopatologi dari organ hepar (nilai kualitatif). Data dari semua kelompok sampel diolah dengan program komputer *SPSS for windows* dan dikemukakan dalam bentuk ***Mean \pm Standar Deviation***. Dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas pada data yang diperoleh. Apabila data pengujian terdistribusi normal dan homogen ($\alpha = 0,05$) serta memenuhi syarat parametrik maka dianalisis dengan menggunakan uji ***One Way Anova*** sedangkan data yang

tidak memenuhi syarat parametrik (nonparametrik) dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskall-Wallis*. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan pada data parametrik ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan* sedangkan untuk data nonparametrik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf signifikan 5%.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar

Hasil pengamatan pada histopatologi hepar diperoleh data berupa nilai rata-rata skoring tingkat kerusakan histopatologi hepar dari tiap perlakuan yang dapat dilihat pada Lampiran 4.1. Adapun persentase dan rata-rata \pm standar deviasi disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Persentase dan Hasil Uji Duncan Skoring Tingkat Kerusakan Histopatologi Hepar Mencit

Perlakuan	Persentase Kerusakan Sel Hepar (%)				Rata-Rata \pm Standar Deviasi Skor Total
	Normal	DP	DH	Nekrosis	
Normal (Sehat)	42.02	34.03	6.68	17.28	152,80 \pm 10,918 ^a
Kontrol antibiotik (K+)	34.41	52.26	9.70	3.62	154.60 \pm 15,582 ^a
Perlakuan dosis 0 mg/kg BB (P0)	21.06	41.70	23.62	13.62	188,00 \pm 20,149 ^b
Perlakuan dosis 600 mg/kg BB (P1)	36.05	53.68	3.95	6.32	152,00 \pm 9,747 ^a
Perlakuan dosis 1200 mg/kg BB (P2)	37.37	55.65	3.23	3.76	148.80 \pm 4,970 ^a

Keterangan:

- Skor tingkat kerusakan histopatologi hepar dihitung berdasarkan pengamatan pada 5 lapang pandang preparat hepar
- Persentase kerusakan sel hepar dihitung dengan menggunakan rumus

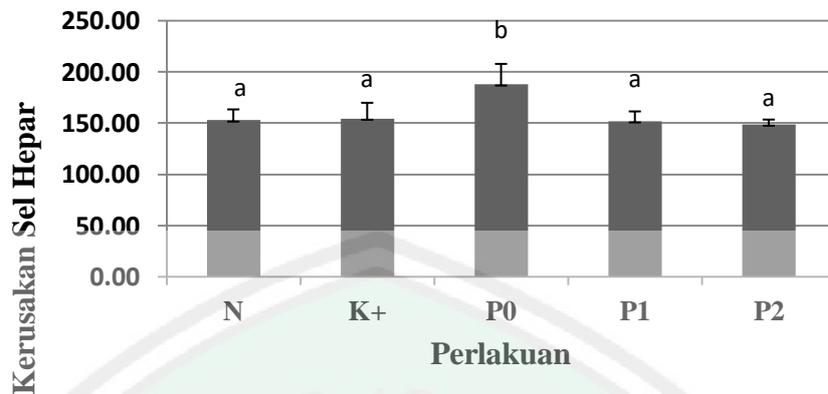
$$= \frac{\text{jumlah sel yang ditemukan}}{\text{jumlah total skoring perlakuan}} \times 100\%$$
- Nilai skor total = Σ Normal + Σ 2DP + Σ 3DH + Σ 4N

Dimana :

 - Σ Normal = jumlah sel normal
 - Σ 2DP = jumlah sel degenerasi parenkimatososa
 - Σ 3DH = jumlah sel degenerasi hidropik
 - Σ 4N = jumlah sel nekrosis
- Rata-rata skor total = skor total dari 5 ulangan pada perlakuan dijumlahkan kemudian dibagi 5 (Lampiran 4.1)
- Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata

Data yang telah diperoleh di atas kemudian dilakukan analisis statistik dengan menggunakan *SPSS 16.0 for Windows*. Berdasarkan data rata-rata nilai skor histopatologi hepar dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test*. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal karena memiliki nilai signifikan sebesar 0,145 ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas pada *Lavene test* memiliki nilai signifikansi sebesar 0,104 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh telah homogen. Oleh karena data yang diperoleh normal dan homogen selanjutnya dilakukan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 1%.

Hasil uji *ANOVA One-Way* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,01$) sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji alpukat (*P. americana*) secara signifikan dapat mempengaruhi histopatologi hepar mencit yang diinfeksi *S. aureus*. Setelah dilakukan uji *ANOVA One-Way* dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap histopatologi hepar.

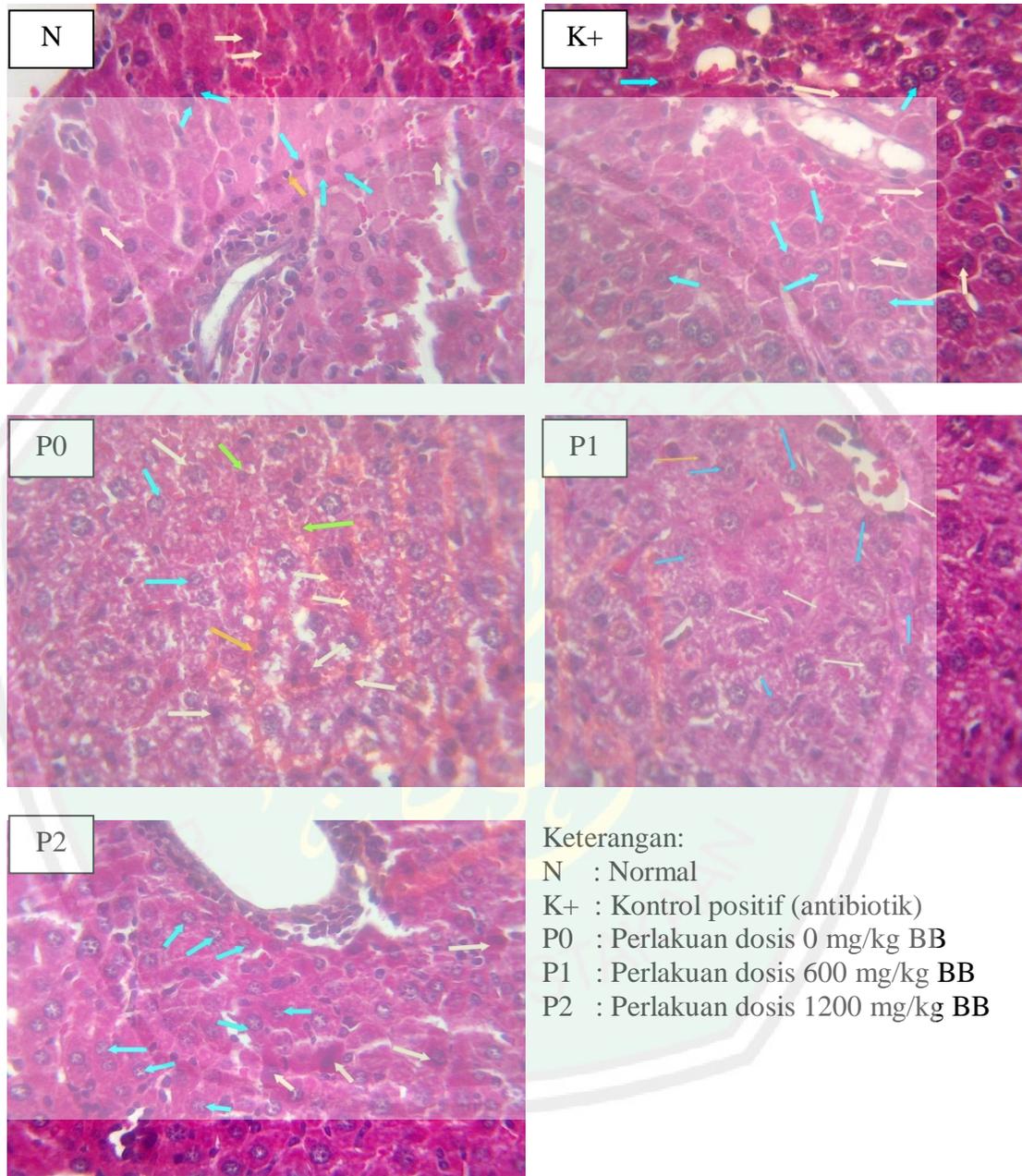


Gambar 4.1 Grafik rata-rata tingkat kerusakan histopatologi hepar.

Keterangan: Perlakuan N (tanpa infeksi, tanpa terapi), K+ (Infeksi *S. aureus* + antibiotik 200 mg/kg BB), P0 (Infeksi *S. aureus*), P1 (Infeksi *S. aureus* + perlakuan dosis 600 mg/kg BB), P2 (Infeksi *S. aureus* + perlakuan dosis 1200 mg/kg BB).

Hasil uji *Duncan* menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata pada perlakuan P0 dengan keempat perlakuan lainnya (normal, K+, P1 dan P2) seperti yang disajikan berupa grafik pada Gambar 4.1 tersebut. Adapun hasil uji statistik histopatologi hepar secara lengkap dijelaskan pada Lampiran 4.2.

Gambaran histopatologi hepar ditunjukkan pada Gambar 4.2 dengan ciri sel normal (bentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah dan membran sel berbatas tegas), degenerasi parenkimatososa (sitoplasma keruh dan membengkak), degenerasi hidropik (bervakuola pada sitoplasma) dan nekrosis (inti sel piknotik dan sitoplasma menggumpal).



Gambar 4.2. Tingkat kerusakan histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) dengan pewarnaan HE Perbesaran 400, sel normal (→), degenerasi parenkimatososa (→), degenerasi hidropik (→), dan nekrosis (→)

Perubahan histopatologi hepar terjadi akibat adanya superantigen *S. aureus* dari komponen permukaan dan eksotoksin *S. aureus* yang menimbulkan kerusakan dan gejala penyakit dengan cara mengganggu membran biologik sel inang (Todar, 1998) bersama dengan reaksi imun hepar dalam melawan bakteri sehingga timbul jejas pada sel hepatosit yang bersifat *reversible*. Kerusakan yang terjadi pada sel hepar dapat bersifat sementara dan tetap. Pada kerusakan yang bersifat sementara sel-sel hepar akan mengalami perubahan untuk beradaptasi dalam mempertahankan hidup. Gangguan kecil pada fungsi hepar dapat dengan cepat menyebabkan perubahan umum baik secara patologi anatomi maupun fisiologinya. Masuknya mikroorganisme dan parasit dapat menyebabkan kelainan hepar yang bersifat multifokus (McGavin, 2007).

Bagian hepar yang sering mengalami kerusakan akibat bahan toksin adalah vena sentralis, sinusoid, dan hepatosit (Syahrizal, 2008). Kerusakan hepatosit secara histologis meliputi terjadinya degenerasi, nekrosis, karioreksis, dan kariolisis yang diawali dengan perubahan permeabilitas membran yang diikuti dengan kematian sel (Panjaitan, 2007).

Berdasarkan pengamatan terhadap tingkat kerusakan histopatologi hepar mencit (Gambar 4.2) diperoleh hasil bahwa pada keseluruhan preparat perlakuan normal, kontrol positif (K+), P0, P1, dan P2 tampak ditemukan adanya semua kriteria tingkat kerusakan sel hepar mulai dari sel normal, degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Namun perbedaan dari tiap perlakuan adalah jumlah dominansi tingkat kerusakan sel yang terjadi, dapat ditinjau dari penjumlahan nilai

skoring kerusakan histologi hepar. Tingkat kerusakan sel berdasarkan kriteria nilai skor histopatologi hepar secara berurutan mulai dari yang terparah adalah sel yang mengalami nekrosis, lalu sel dengan degenerasi hidropik, degenerasi parenkimatososa, dan terakhir sel normal yang tidak terjadi kerusakan.

Sel hepar yang mengalami nekrosis bersifat *irreversible* atau tetap. Menurut Lu (1995) dan Sarjadi (2003), nekrosis adalah kematian sel atau jaringan yang merupakan kerusakan tingkat lanjut dari degenerasi sel dan bersifat akut. Gunawan (2008) menjelaskan bahwa tanda-tanda nekrosis yakni berupa karioeksis ditandai dengan inti yang mengalami piknotik atau sebagian piknotik mengalami fragmentasi, kariolisis ditandai dengan kromatin inti menjadi pucat. Dalam penelitian ini jumlah dominansi sel hepar yang mengalami nekrosis adalah yang ditemukan pada perlakuan normal dan perlakuan P0 ($N > P0$) dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Pada perlakuan normal diduga sel nekrosis disebabkan karena proses regenerasi sel-sel hepar yang sudah mengalami penuaan sehingga kematian sel bersifat alami. Menurut Mitcell dan Cotran (2007) nekrosis juga dapat terjadi karena setiap sel dalam tubuh akan selalu mengalami penuaan yang diakhiri kematian sel dan digantikan oleh sel-sel baru melalui proses regenerasi. Pernyataan ini menjadi alasan kuat terjadinya nekrosis pada perlakuan normal karena mencit tidak mengalami infeksi *S. aureus* sehingga tidak mungkin nekrosis tersebut terjadi karena kerusakan tingkat lanjut degenerasi yang diakibatkan rusaknya susunan enzim hepar. Sedangkan pada perlakuan P0 terjadinya nekrosis dapat disebabkan karena kerusakan lanjutan dari degenerasi sel akibat adanya antigen berupa infeksi *S. aureus*. Gunawan (2008)

menjelaskan bahwa nekrosis sel hepar merupakan kelainan tingkat lanjut dari degenerasi dan bersifat *irreversible* karena nekrosis terjadi akibat rusaknya susunan enzim hepar.

Sebenarnya ketika terjadi infeksi lokal, hepar memiliki mekanisme pertahanan melalui sel-sel imun yang berperan dalam imunologi hepar seperti sel T, sel B, dan sel NK yang bermigrasi dan berkembang di dalam hepar serta sel kupffer yang merupakan makrofag dalam hepar. Namun, hepar juga memiliki keterbatasan dalam mendetoksifikasi bahan toksin yang masuk ke dalam tubuh, sehingga bahan toksin tersebut tertimbun di dalam darah dan dapat menimbulkan kerusakan sel-sel hepar (Murray, 2003).

Degenerasi hidropik merupakan kelainan yang tingkat keparahannya lebih tinggi dari degenerasi parenkimatososa. Gambaran sel yang mengalami degenerasi yaitu dengan adanya pembengkakan sel sebagai manifestasi pertama jejas akibat pergeseran air ekstrasel ke intrasel (Prasetyo, 2005). Apabila kerusakan membran sel terus berlangsung, maka sitoplasma sel akan berisi cairan yang membentuk vakuola-vakuola. Hal ini akan menyebabkan kebengkakan sel sehingga sitoplasma terlihat lebih pucat (Cheville, 1999). Dalam penelitian ini, hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah dominansi sel yang mengalami degenerasi hidropik adalah pada perlakuan P0 dapat dilihat pada Tabel 4.1, yaitu perlakuan infeksi *S. aureus* dan tanpa pemberian terapi pengobatan. Kerusakan pada perlakuan P0 ini diduga karena antigen menstimulasi produksi sitokin proinflamasi TNF- α (Gillian dkk., 2001), IL-1, dan IL-6 yang memicu proses inflamasi pada jaringan dan menyebabkan sel untuk

memproduksi oksigen toksik untuk proses *respiratory burst* yaitu *reactive oxygen species* (ROS) (Short, 2004).

Produksi ROS meningkat sejalan dengan metabolisme sel-sel tubuh untuk melakukan proses killing terhadap *S. aureus*. ROS dapat menghasilkan senyawa radikal bebas dalam jumlah besar melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan endogen. Senyawa tersebut bersifat toksik dan dapat mengakibatkan stres oksidatif mulai dari tingkat sel hingga ke organ tubuh (Winarsi, 2007). Menurut Chapter (2011), apabila kadar antioksidan tidak mencukupi, maka tubuh tidak mampu mengatasi stress oksidatif, tidak mampu melindungi jaringan normal dan tidak mampu mengontrol kerusakan yang ditimbulkan oleh bakteri.

Toksin yang dihasilkan *S. aureus* berupa eksotoksin yang juga menyebabkan kerusakan dengan cara mengganggu membran biologik sel inang (Todar, 1998). Apabila toksin yang dihasilkan antigen mengganggu membran biologik maka sel hepar akan mengalami kerusakan sehingga keseimbangan pengeluaran K^+ dan pemasukan ion Na^+ , Ca^+ , dan air akan terganggu. Kerusakan membran sel menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah air ke dalam sel sehingga menyebabkan sitoplasma menjadi bengkak dan dipenuhi butiran-butiran air (Cheville, 1999).

Degenerasi parenkimatosa merupakan bentuk degenerasi paling ringan yang berupa pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma dengan munculnya granula-granula dalam sitoplasma akibat endapan protein yang disebabkan oleh eksotoksin *S. aureus*. Menurut Sarjadi (2003), kerusakan hanya terjadi pada sebagian kecil struktur sel. Kerusakan ini menyebabkan oksidasi sel terganggu, sehingga proses eliminasi air pun

terganggu mengakibatkan terjadinya penimbunan air di dalam sel. Dalam penelitian ini, hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah dominansi sel yang mengalami degenerasi parenkimatososa adalah pada perlakuan P2, P1, K+, dan P0 (P2>P1>K+>P0) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Perlakuan P2, P1, dan K+ merupakan perlakuan terapi, sedangkan kerusakan degenerasi parenkimatososa yang ditemukan pada P0 diduga merupakan tahap awal terjadinya kerusakan sel akibat infeksi *S. aureus*.

Perlakuan P2 dan P1 dengan dosis ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) yang berbeda menunjukkan gambaran histologi hepar yang sama dengan perlakuan kontrol positif (K+) yang menggunakan terapi antibiotik. Hal ini diduga karena pada ketiga perlakuan tersebut dilakukan terapi yang masing-masing bahan terapi memiliki senyawa aktif dengan mekanisme tersendiri dalam memperbaiki dan mengurangi kerusakan histopatologi hepar. Perlakuan P1 dan P2 terjadi perbaikan kerusakan histopatologi hepar dengan adanya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*). Adapun hasil uji ANOVA memperkuat dugaan tersebut dengan diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,01$) yang dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) berpengaruh terhadap perbaikan kerusakan histopatologi hepar.

Gunawan (2008) menjelaskan bahwa sel-sel yang mengalami degenerasi hidropik maupun degenerasi parenkimatososa masih bisa dilakukan pemulihan kerusakan karena bersifat tidak tetap atau *reversible* karena hanya terjadi pada

mitokondria dan retikulum endoplasma oleh rangsang yang mengakibatkan gangguan oksidasi. Sel dapat kembali normal setelah dilakukannya terapi.

Biji alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung senyawa aktif yang meliputi senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan fenol (Arukwe dkk., 2012). Penelitian Hendra dkk. (2014) membuktikan bahwa biji alpukat berperan sebagai hepatoprotektif, yaitu suatu senyawa yang dapat memberikan perlindungan pada hepar dari kerusakan yang ditimbulkan toksin. Menurut Dewi dan Sulistyowati (2013), hal ini karena biji alpukat (*P. americana*) berpotensi sebagai antibakteri yang bekerja spesifik dalam merusak dan mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri serta sebagai antioksidan (Sutrisna dkk., 2015). Senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri diantaranya adalah alkaloid, saponin, dan flavonoid. Robinsin (1995) menjelaskan bahwa alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri dengan cara menghambat biosintesis protein pada proses translasi sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk, sedangkan flavonoid menurut Novalina dkk. (2013) juga berperan dalam perusakan dinding sel bakteri dengan cara membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang terdapat pada dinding sel bakteri yang menyebabkan rigiditas dinding sel mengalami penurunan sehingga flavonoid mampu menerobos dinding sel. Selain itu, flavonoid bersifat lipofilik sehingga dapat menerobos membran sel bakteri yang kemudian dapat mengurangi fluiditas dari membran sel, dan mendenaturasi protein sehingga aktivitas metabolisme bakteri terhenti. Menurut Volk dan Wheeler (1993) senyawa

flavonoid bersifat polar, sehingga dengan mudah untuk menembus lapisan peptidoglikan pada *S. aureus* yang bersifat polar juga.

Adapun senyawa saponin (polifenol) spesifik berperan dalam merusak membran sitoplasma sel bakteri. Ion H^+ pada saponin menyerang gugus hidrofilik (gugus hidroksi dan fosfat) pada permukaan membran sel yang mengakibatkan gugus hidroksi pada molekul ergosterol yang berikatan dengan hidrogen terputus, sehingga membran sel tidak mampu menahan tekanan dari dalam, akibatnya sitoplasma dalam sel akan menembus keluar. Selain itu, pada molekul fosfolipid ion H^+ dari senyawa saponin akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Akibatnya, fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma sehingga membran sitoplasma akan bocor dan zat-zat untuk metabolisme sel bakteri akan terbuang keluar. Pada akhirnya, bakteri akan mati (Dewi dan Sulistyowati, 2013).

Selain itu, senyawa flavonoid berperan juga sebagai antioksidan yang berperan untuk menurunkan produksi ROS dengan cara dapat menghambat aktivasi sel T *helper* (Th1) sehingga TNF- α , IL-12, dan IFN- γ tidak teraktivasi karena *Nuclear Factor* (NF-kB) dan inhibitor NF-kB terhambat akibat adanya ikatan antara flavonoid dengan ROS (Tanaka dkk., 2013). Inaktivasi TNF- α menyebabkan keberadaan neutrofil menurun. Inaktivasi IL-12 menyebabkan tidak teraktivasinya sel T sitotoksik (Tc) sehingga tidak memproduksi perforin, yaitu substansi yang dapat merusak membran sel bakteri. Inaktivasi IFN- γ menyebabkan tidak munculnya sel B pada daerah infeksi sehingga tidak menghasilkan sel mast. Inaktivasi dari neutrofil,

sel Tc, dan sel mast menyebabkan terjadinya perbaikan gambaran histopatologi hepar (Ramesh dan Padmavathi, 2010) dan melindungi jaringan mukosa dengan cara mencegah pembentukan lesi pada sel-sel hepar (Herlina, 2010).

Sharma dan Naveen (2011) menambahkan bahwa flavonoid dapat mencegah pembentukan radikal bebas melalui penguraian senyawa non-radikal seperti H₂O₂ dan menangkap radikal oksigen yang dilepaskan oleh peroksida. Penurunan radikal bebas dapat mencegah kerusakan sel yang lebih parah sehingga kerja antioksidan endogen dapat mengimbangi antioksidan eksogen dalam mencegah akumulasi infeksi bakteri dalam tubuh. Sehingga dapat membantu melindungi organ dari agen toksik atau stres oksidatif (Sutrisna dkk., 2015).

Mekanisme berkurangnya kerusakan histopatologi hepar melalui pemberian ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) melalui tahapan yang panjang. Allah SWT menjelaskan dalam firman-Nya surat al-An'am (6): 59.

﴿ وَعِنْدَهُ مَفَاتِحُ الْغَيْبِ لَا يَعْلَمُهَا إِلَّا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ مِنْ وَرَقَةٍ إِلَّا لَا يَعْلَمُهَا وَلَا حَبَّةٌ فِي ظُلْمَتِ الْأَرْضِ وَلَا رَطْبٍ وَلَا يَابِسٍ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ ﴿٥٩﴾

“Dan pada sisi Allah-lah kunci-kunci semua yang ghaib; tidak ada yang mengetahuinya kecuali Dia sendiri, dan Dia mengetahui apa yang di daratan dan di lautan, dan tiada sehelai daun pun yang gugur melainkan Dia mengetahuinya (pula), dan tidak jatuh sebutir biji-pun dalam kegelapan bumi, dan tidak sesuatu yang basah atau yang kering, melainkan tertulis dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfudz).” (Q.S. Al-An'am (6): 59).

Arti kalimat “لا يعلمها الا هو” adalah tidak ada yang mengetahuinya (kejadian/ghaib) kecuali Allah SWT. Menurut asy-Syuyuthi (1990), meski hanya Allah SWT yang mengetahui dengan pasti setiap proses yang terjadi di semesta ini,

akan tetapi manusia wajib mencari tahu dan mempelajari setiap proses penciptaan yang terjadi sebagaimana perannya sebagai khalifah di muka bumi yang bersifat ulul albab, terhadap apa-apa yang terjadi di muka bumi dia berpikir akan penciptaan-Nya, karena bahkan gugurnya sehelai daun pun sudah tertulis di Lauh Mahfudz, tak ada yang luput dari kekuasaan dan pengetahuan-Nya. Apabila dikorelasikan dengan penelitian ini maka segala proses perbaikan kerusakan jaringan akibat adanya antigen berupa infeksi bakteri *S. aureus*, Allah SWT sudah mengaturnya dengan mekanisme yang luar biasa.

Penggunaan dosis ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) pada perlakuan P1 dan P2 yang digunakan secara berturut-turut adalah 600 mg/kgBB dan 1200 mg/kgBB. Berdasarkan hasil uji *Duncan* penggunaan kedua dosis ini menunjukkan hasil yang secara signifikan tidak berbeda nyata sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua dosis memiliki efektivitas yang sama terhadap perbaikan kerusakan histopatologi hepar. Hal ini karena kandungan senyawa aktif pada kedua dosis sama yakni mengandung flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid, triterpenoid, kuonin, dan monotripernoid. Namun berbeda dalam konsentrasinya. Oleh karena itu, lebih diutamakan menggunakan dosis rendah sebagai terapi yakni 600 mg/kgBB.

Senyawa aktif yang terkandung dalam bahan terapi seperti biji alpukat (*Persea americana* Mill.) tidak berpengaruh toksik terhadap sel-sel tubuh selama penggunaan masih dalam batas kewajaran atau tidak melebihi dosis standar. Namun ketika dosis tinggi digunakan dalam terapi maka dapat mengakibatkan respon toksik. Amalia (2009) menjelaskan bahwa kerusakan hepar karena zat toksik dipengaruhi oleh

beberapa faktor, seperti jenis zat kimia, dosis yang diberikan, dan lamanya paparan zat tersebut seperti akut, subkronik atau kronik. Semakin tinggi konsentrasi suatu senyawa yang diberikan maka respon toksik yang ditimbulkan semakin besar. Jika terjadi demikian, maka akan mempengaruhi keseimbangan dalam tubuh yang berakibat pada kerusakan bahkan penyakit. Hal ini karena bahan terapi menstimulasi respon sistem imun yang juga dapat membahayakan tubuh jika berlebih, meskipun pada bakteri senyawa aktif ini bekerja spesifik pada komponen dinding sel bakteri yang tidak dimiliki sel tubuh hewan dan manusia.

Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu di bumi ini dalam keadaan seimbang. Begitu pula dengan penciptaan manusia yang mekanisme tubuhnya seimbang. Sebagaimana termaktub dalam surat al-Infithar (82): 7-8.

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾ فِي أَيِّ صُورَةٍ مَّا شَاءَ رَكَّبَكَ ﴿٨﴾

“Yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang,. Dalam bentuk apa saja yang Dia kehendaki, Dia menyusun tubuhmu.” (Q.S. Al-Infithar (82): 7-8).

Kedua ayat tersebut mengandung pernyataan Allah SWT terkait penciptaan manusia. Pada ayat 7 terdapat kata “خلق” yang artinya telah menciptakan, “سوي” berarti telah menyempurnakan dan kata “عدل” adalah telah menyeimbangkan. Lalu pada ayat selanjutnya Allah SWT menyatakan “في أي صورة” berarti ke dalam bentuk apapun yang dipahami bahwa maksudnya adalah tubuh manusia terdiri berbagai organ yang memiliki bentuk dan fungsi tersendiri dalam menjalankan mekanisme tubuh sehingga mencapai homeostatis (keadaan seimbang). Quthb (2002) mengatakan

bahwa penciptaan manusia yang sedemikian sempurna ini merupakan satu perkara yang harus disyukuri sebagai karunia Allah SWT. Manusia adalah makhluk yang lebih besar dari apa yang dipikirkannya dan lebih ajaib dari segala kejadian yang dilihat di sekelilingnya. Kecantikan, kesempurnaan, dan kesederhanaan kelihatan jelas pada kejadian pembentukan tubuh, akal, dan roh manusia. Semua susunannya diciptakan seimbang dan lengkap.

Ayat tersebut menitikberatkan pada penciptaan tubuh yang seimbang dengan diciptakannya beraneka bentuk organ dengan berbagai fungsi masing-masing yang semuanya bertujuan untuk mencapai keseimbangan tubuh. Dalam penelitian ini, infeksi bakteri *S. aureus* dapat menimbulkan kerusakan sampai infeksi akut pada jaringan dan organ termasuk hepar. Toksin yang dihasilkan *S. aureus* mampu menstimulasi respon imun tubuh sehingga teraktivasi untuk melawan bakteri sebagai antigen. Jika paparan antigen berlangsung secara terus-menerus dapat mengganggu fungsi normal organ karena terjadi migrasi berbagai sel-sel imun dan produksi sitokin yang bertujuan dalam mekanisme pertahanan tubuh. Respon sistem imun ini akan menimbulkan jejas pada jaringan sehingga terjadi kerusakan. Ketika terjadi kerusakan dan fungsi normal organ terganggu maka keseimbangan tubuh juga akan terganggu, sehingga diperlukan pengobatan untuk menangani kerusakan tersebut agar tubuh kembali mencapai keseimbangan salah satunya adalah dengan pemberian terapi ekstrak biji alpukat (*P. americana*) yang mengandung berbagai senyawa aktif yang berperan dalam memperbaiki kerusakan jaringan dan organ sehingga tubuh menjadi

normal dan seimbang. Keseimbangan dalam tubuh sangat diperlukan untuk menjaga agar mekanisme kerja tubuh tak saling tindih dan mengganggu fungsi organ lain.

Manusia adalah makhluk yang paling indah bentuknya, sempurna ciptaannya dan seimbang posturnya jika dibandingkan dengan makhluk ciptaan Allah SWT lainnya (Shihab, 2002). Keseimbangan dalam konteks tersebut jika ditinjau lebih jauh juga menjelaskan bahwa tiap bagian yang diciptakan-Nya memiliki kadarnya masing-masing sehingga menjadi seimbang. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al-Qamar (54): 49.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.*” (Q.S. Al-Qamar (54): 49).

Arti secara bahasa dari kata “قدر” adalah kadar atau ukuran sedangkan secara *istilahi* adalah segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT berdasarkan kadar atau ukurannya masing-masing (standar minimal dan maksimal). Menurut Shihab (2002), hal tersebut diatur sedemikian rupa demi kebaikan hidup manusia. Jika dikorelasikan antara ayat dengan penggunaan dosis pada penelitian, menerangkan pentingnya ukuran pemakaian dosis.

Perlakuan P2 memiliki kadar dosis yang lebih tinggi daripada perlakuan P1, namun setelah dilakukan pengamatan dan uji statistik diperoleh hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan terhadap perbaikan histopatologi hepar. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar tinggi belum tentu menghasilkan hasil yang lebih

baik. Adapun pada perlakuan kontrol positif terjadi perbaikan kerusakan histopatologi hepar karenadilakukan terapi antibiotik helixim.

Helixim merupakan jenis antibiotik cefixime. Keberhasilan pengobatan antibiotik ditentukan oleh interaksi obat dengan reseptor yang terdapat pada mikroorganisme. Ketika terjadi ikatan antara mikroorganisme dengan obat, maka daya toksik yang dimiliki obat tersebut mampu menghancurkan mikroorganisme (Bhutta, 1997). Penelitian Kusuma (2017), melaporkan bahwa cefixime berperan sebagai antibakteri yang mengandung senyawa rutin untuk menghambat dihidrofolat reduktase yang diproduksi *S. aureus* karena berpotensi berikatan dengan PBP2a pada dinding sel *S. aureus*. Oefner dkk. (2009) menjelaskan bahwa enzim dihidrofolat reduktase berfungsi untuk katalisis reaksi pembentukan tetrahidrofolat dari asam folat. Penghambatan enzim dihidrofolat reduktase ini dapat menyebabkan sintesis DNA dan pembelahan sel terhambat sehingga dapat menyebabkan kematian sel.

Sedangkan hasil uji *Duncan* dari perlakuan P1 dan P2 dengan kontrol positif menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata secara signifikan. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa kedua terapi memiliki potensi yang sama sebagai antibakteri dalam memperbaiki dan mengurangi kerusakan histopatologi hepar namun dengan mekanisme yang berbeda. Ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri sedangkan antibiotik bekerja dengan menghambat sintesis DNA dan pembelahan sel bakteri. Selain itu, ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) juga berperan sebagai antioksidan yang tidak

dimiliki antibiotik yang dapat melindungi lipid membran sel hepatosit terhadap reaksi oksidasi yang merusak.

Sel normal hepar memiliki ciri-ciri inti sel terlihat jelas, sel berbentuk poligonal dan sekat antar sel masih tampak jelas. Adapun dalam penelitian ini jumlah dominansi yang tinggi ditemukan sel normal terdapat pada perlakuan normal, P2, P1, dan K+ (normal>P2>P1>K+) dapat dilihat pada Tabel 4.1. Pada perlakuan normal tidak dilakukan infeksi bakteri sehingga tidak terjadi kerusakan sel hepar akibat paparan toksin yang dihasilkan bakteri. Sedangkan pada perlakuan P2, P1, dan K+ ditemukan banyak sel normal karena kandungan senyawa aktif baik pada perlakuan pemberian terapi ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) (P1 dan P2) maupun terapi antibiotik helixime (K+) yang sehingga terjadi perbaikan sel hepar.

Dengan demikian, berdasarkan pengamatan terhadap histopatologi hepar dapat disimpulkan bahwa perlakuan P1 dan P2 menunjukkan hasil yang tidak berbeda secara signifikan dengan perlakuan kontrol positif dan perlakuan normal sehingga diduga kandungan senyawa aktif biji alpukat (*P. americana*) berperan dalam perbaikan kerusakan histopatologi hepar karena menunjukkan gambaran histologi yang sama dengan perlakuan normal (sehat), sedangkan P1 dan P2 terhadap P0 menunjukkan hasil yang berbeda nyata secara signifikan, hal ini karena pada P0 ditemukan kerusakan histopatologi hepar yang parah.

4.2. Pengaruh Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Jumlah Megakaryosit di Limpa

Hasil pengamatan jumlah megakaryosit di limpa diperoleh data berupa jumlah megakaryosit dari tiap perlakuan (Lampiran 5.1). Secara histologis megakaryosit memiliki ciri yaitu bentuk sel tidak teratur, berukuran besar (35-160 μm), dan sitoplasma mengandung granula halus berwarna merah-ungu. Adapun rata-rata jumlah megakaryosit di limpa dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Persentase dan Rata-Rata Jumlah Megakaryosit di Limpa

Perlakuan	Persentase Jumlah Megakaryosit (%)					Rata-rata \pm Standar Deviasi
	1	2	3	4	5	
Normal (N)	10.67	18.67	18.67	26.67	25.33	15,00 \pm 4,796
Kontrol antibiotik (K+)	36.00	10.00	2.00	18.00	34.00	10,00 \pm 7,416
Perlakuan dosis 0 mg/kg BB (P0)	7.27	33.64	18.18	31.82	9.09	22,00 \pm 13,583
Perlakuan dosis 600 mg/kg BB (P1)	14.12	5.88	28.24	27.06	24.71	17,00 \pm 8,216
Perlakuan dosis 1200 mg/kg BB (P2)	31.07	23.30	10.68	21.36	13.59	20.60 \pm 8,355

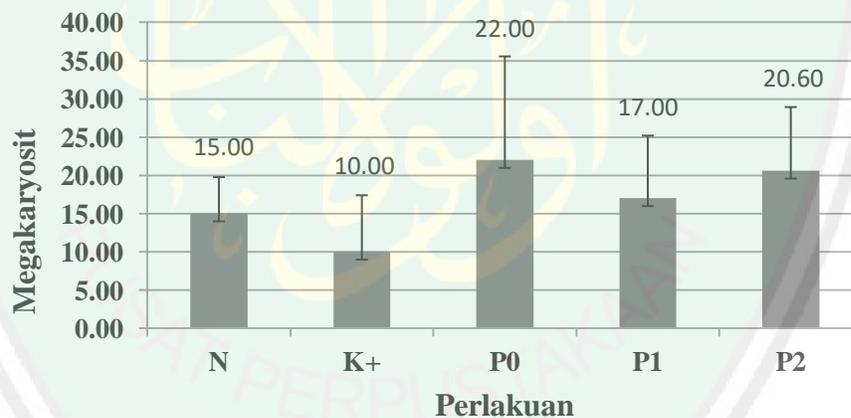
Keterangan :

- Jumlah megakaryosit dinyatakan dengan satuan: jumlah megakaryosit per 5 lapang pandang
- Rata-rata jumlah megakaryosit = jumlah megakaryosit dari 5 ulangan pada perlakuan dibagi 5 (Lampiran 5.1)

Berdasarkan data yang telah diperoleh di atas kemudian dilakukan analisis statistik dengan menggunakan *SPSS 16.0 for Windows* (Lampiran 5.2). Data rata-rata nilai skor histopatologi limpa dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov Test*. Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data terdistribusi normal karena memiliki nilai signifikan sebesar 0,774 ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas pada *Lavene test* memiliki nilai signifikansi sebesar 0,063 ($p > 0,05$), sehingga dapat

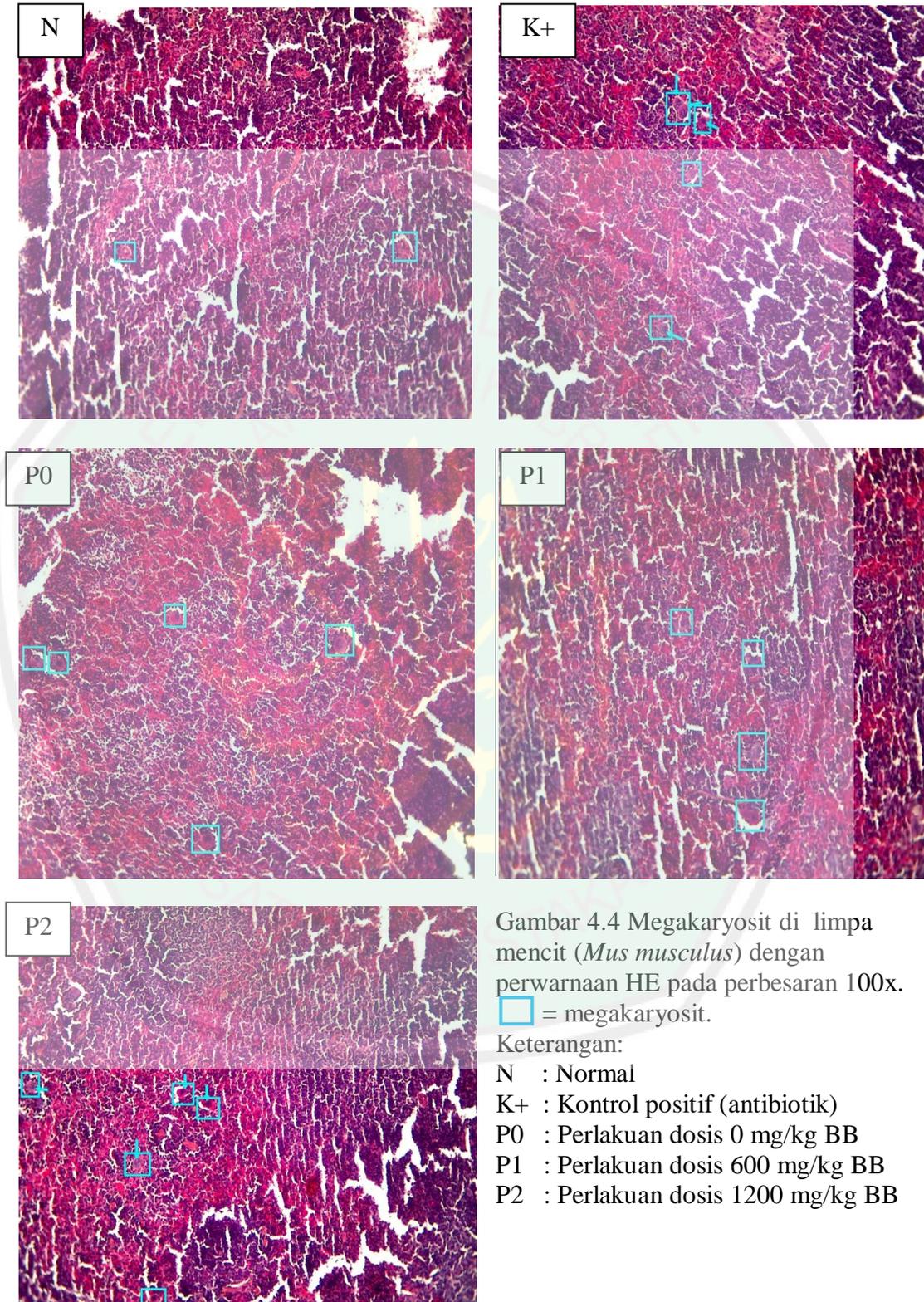
disimpulkan bahwa data yang diperoleh telah homogen. Oleh karena data yang diperoleh normal dan homogen, maka selanjutnya dilakukan uji *ANOVA One-Way* dengan taraf signifikansi 5%.

Hasil uji *ANOVA One-Way* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,263 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa hipotesa 1 (H_1) ditolak dan hipotesa 0 (H_0) diterima. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji alpukat (*P. americana*) secara signifikan tidak dapat mengurangi kerusakan histopatologi limpa mencit yang diinfeksi *S. aureus*. Hasil rata-rata jumlah megakaryosit dan standar deviasi juga dapat dilihat berupa grafik pada Gambar 4.3. sedangkan gambar histopatologi limpa ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Grafik rata-rata jumlah megakaryosit di limpa.

Keterangan: Perlakuan N (tanpa infeksi, tanpa terapi), K+ (Infeksi *S. aureus* + antibiotik 200 mg/kg BB), P0 (Infeksi *S. aureus*), P1 (Infeksi *S. aureus* + perlakuan dosis 600 mg/kg BB), P2 (Infeksi *S. aureus* + perlakuan dosis 1200 mg/kg BB).



Gambar 4.4 Megakaryosit di limpa mencit (*Mus musculus*) dengan perwarnaan HE pada perbesaran 100x. = megakaryosit.

Keterangan:

N : Normal

K+ : Kontrol positif (antibiotik)

P0 : Perlakuan dosis 0 mg/kg BB

P1 : Perlakuan dosis 600 mg/kg BB

P2 : Perlakuan dosis 1200 mg/kg BB

Infeksi yang masuk ke dalam darah dapat mengakibatkan terjadinya sepsis sampai nekrosis (Budiawan dkk., 2013), bakteri akan melakukan penetrasi memasuki pembuluh darah dan menyebar dalam tubuh serta menyebabkan kerusakan jaringan sampai terjadi infeksi akut. Pada umumnya ketika terjadi infeksi akut *S. aureus* akan menyebabkan perdarahan akibat kebocoran pada pembuluh vascular pada jaringan limpa sehingga jumlah platelet dalam darah akan meningkat (Irianto, 2006), Penelitian Dewi (2008) menunjukkan bahwa perdarahan pada limpa akibat bakteri disebabkan karena kerusakan endotel oleh toksin yang dihasilkan bakteri. Hal inilah yang diduga memicu pembebasan megakaryosit dari sumsum tulang ke dalam limpa sebagai respon adanya perdarahan. Rahardjo dkk.(2013), menyatakan bahwa pada umumnya rerata jumlah sel megakaryosit meningkat seiring dengan makin lamanya hari pengamatan pasca infeksi.

Berdasarkan pengamatan terhadap histopatologi limpa mencit (Gambar 4.4). Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan hasil ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan jumlah megakaryosit pada setiap perlakuan memiliki nilai variansi yang sama. Namun berdasarkan hasil uji statistik ANOVA menunjukkan hasil yang secara signifikan tidak berbeda nyata karena diperoleh hasil sebesar 0,263 ($p > 0,05$) dengan taraf signifikansi 5%. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa hipotesa 1 (H_1) ditolak dan hipotesa 0 (H_0) diterima sehingga pemberian ekstrak biji alpukat (*P. americana*) secara signifikan tidak berpengaruh pada jumlah megakaryosit mencit yang diinfeksi *S. aureus* pada semua perlakuan sehingga antara perlakuan normal, kontrol positif, perlakuan P0, P1, dan

P2 hasilnya sama meski dilakukan perlakuan yang berbeda berupa infeksi atau tanpa infeksi dan pemberian terapi ekstrak maupun terapi antibiotik. Secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 4.2. dan grafik pada Gambar 4.3.

Hal ini terjadi diduga disebabkan oleh ketahanan fisik limpa yang merupakan organ khusus sistem imun utama. Berkaitan dengan ini maka perlu ditinjau kembali pada anatomi, histologi, dan fisiologi organ limpa. Eroschenko (2010) menjelaskan bahwa limpa adalah organ limfoid terbesar dengan banyak pembuluh darah dan berperan sebagai organ utama pertahanan tubuh dari partikel asing. Secara anatomi dan histologi, organ limpa dilengkapi dengan sel-sel dan jaringan yang memobilisasi dan mendukung pada fungsi utamanya yang mencakup semua sel, jaringan, dan organ yang mengandung kumpulan sel imun yaitu limfosit.

Limpa merupakan tempat berkumpulnya limfosit aktif yang masuk ke dalam darah dan merupakan organ penting dalam proses aktivasi sistem imun (Iskandar dkk., 2006) serta menghasilkan antibodi humoral terhadap antigen yang diangkut melalui darah (Khasanah, 2009) yang dihasilkan oleh folikel limfoid dari pulpa putih pada limpa (Tizard, 1988). Sel-sel imun terdapat pada bagian pulpa putih yakni diantaranya sel limfosit B dan makrofag (Ward dkk., 1999) dengan kandungan jumlah makrofag yang tinggi karena perannya dalam destruksi sel darah dan menyalurkan debris yang beredar dan antigen lainnya dalam darah (Khasanah, 2009). Sedangkan pada zona marginalis dari limpa terjadi proses penyaringan antigen dalam sirkulasi sistemik dan memainkan peran penting dalam melawan antigen (Mebius dan Kraal, 2005). Dalam keadaan tertentu limpa akan membesar untuk melakukan

pembersihan terhadap antigen secara adekuat (Guyton dan Hall, 2000), akibat adanya proliferasi dari sel limfosit pada pulpa putih (Makiyah dkk., 2014).

Berdasarkan penjelasan tersebut diduga ketika terjadi infeksi, bakteri tidak mampu berkoloni dalam limpa dikarenakan ketahanan fisik limpa sebagai sistem imun utama tubuh. Antigen menstimulasi sistem imun menjadi aktif dan berproliferasi sehingga dengan cepat segera menyerang bakteri melalui pertahanan sel makrofag, sel T maupun antibodi. Abbas dan Lichman (2005) dalam Mufidah dkk. (2013) menjelaskan bahwa respon imun terjadi akibat adanya invasi bakteri *S. aureus* sebagai antigen. Ketika masuk ke dalam tubuh akan dieliminasi oleh neutrofil dan makrofag sebagai *antigen presenting cells* (APC). Di dalam makrofag, bakteri akan difagositosis kemudian dikenali oleh *Major Histocompatibility Complex II* (MHC II) dalam bentuk antigen peptida. Kemudian antigen peptida tersebut akan berikatan dengan limfosit T *helper* (CD4). Sel T CD4⁺ efektor menjadi aktif dan akan mensekresikan sitokin interferon gamma (IFN- γ) yang berfungsi sebagai aktivasi makrofag (agar lebih reaktif), proses fagositosis, dan *killing* bakteri. Oleh karena itu, bakteri yang menginfeksi tubuh dapat difagositosis dengan cepat sebelum berkolonisasi dalam jaringan, sehingga tidak terjadi kerusakan pada jaringan atau terjadi kerusakan yang tidak berarti.

Adapun alasan lainnya adalah karena tempat pembentukan megakaryosit adalah di sumsum tulang. Megakaryosit berperan penting dalam proses pembentukan trombosit yang berfungsi dalam proses pembekuan darah (Enrica dkk., 2014). Jumlah trombosit akan meningkat jika terjadi perdarahan akibat infeksi akut dalam jaringan

akibat dari megakaryosit yang bersirkulasi ke bagian tubuh yang terinfeksi tersebut (Dewi, 2008). Pada kasus infeksi dalam penelitian ini, bakteri tidak menyebabkan kerusakan yang berarti pada jaringan sehingga infeksi yang terjadi tidak akut. Oleh karena itu, diperkirakan infeksi yang terjadi tidak memicu pembebasan megakaryosit yang signifikan dari sumsum tulang ke dalam limpa.



BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) berpengaruh sangat signifikan dalam mengurangi tingkat kerusakan histopatologi hepar mencit dengan dosis optimal 600 mg/kg BB.
2. Ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) tidak berpengaruh terhadap jumlah megakaryosit di limpa.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yakni:

1. Macam metode ekstraksi lain dari sediaan biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang mungkin lebih mudah diaplikasikan dalam ruang lingkup masyarakat luas.
2. Pengaruh biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap kadar SGPT hepar serta peningkatan jumlah folikel limfoid pada limpa mencit yang diinfeksi *S. aureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Diterjemahkan oleh M. Abdul Ghoffar E.M. dan Abdurrahim Mu'thi. Bogor: Pustaka Imam asy-Syafi'i.
- Afifurrahman, K., Husni Samadin, Syahril Aziz. 2014. *Staphylococcus aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *MKS*. Vol. 46. No. 4.
- Afrianti, I. 2010. *33 Macam Buah-Buahan Untuk Kesehatan*. Bandung: Alfabeta.
- Ajizah, 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* l. *Bioscience*. Vol. 1: 31-8.
- Amalia, Nurika. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Valerian (*Valeriana officinalis*) Terhadap Hepar Mencit Balb/C. *Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Anggrella, Dita Purwinda. 2014. Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dengan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Anshori, Nuril Hudha, Nur Widayati, dan Anisah Ardiana. 2014. Pengaruh Perawatan Luka Menggunakan Madu terhadap Kolonisasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Luka Diabetik Pasien Diabetes Melitus di Wilayah Kerja Puskesmas Rambipuji Kabupaten Jember. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 2. No. 3.
- Anthony, C. P. dan Kolthoff, N. J. 1971. *Textbook of Anatomy and Physiology*, 8th ed. St. Louis: Mosby Company.
- Arukwe, U., Amadi, B.A., Duru, M.K.C., Agomuo, E.N., Adindu, E. A., Odika, P.C., dkk. 2012, Chemical Composition of *Persea americana* Leaf, Fruit and Seed. *IJJRAS*. 11, 346-348.
- Ashari, Sumeru. 2004. *Biologi Reproduksi Tanaman Buah- Buahan Komersial*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Atsuhendra. 2007. *Ekstraksi Dan Karakteristik Senyawa Fenolik Dari Biji Alpukat (Persea americana Mill.)*. Jakarta: Prosiding Seminar Nasional Patpi.
- Aughey E dan Frey FL. 2001. *Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates*. London: Iowa State University Press. Halm 215-226, 250-251.

- Aulia, D., Arief I. Sanjaya., dan Ina S. Timan. 2003. The Use of Immatane to Total Neutrophil (IT) Ratio to Detect Bacteremia in Neonatal Sepsis. *Journal Laboratory Medicine & Quality Assurance*. 25: 237-242.
- Aziza, Rezi Z. 2010. Gambaran Histofotometri Hati, Usus Halus, Dan Limpa Pada Tikus Hiperglikemia Yang Diberi Ekstrak Sambiloto. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Basri S. 1996. *Kamus Kimia*. Jakarta: Penerbit Rineka Cipta.
- Berata I K. 1996. Hubungan Ciri Fenotip *S. Equi Subsp Zooepididimicus* Dengan Perubahan Patologik dan Respon Fagositosis. *Thesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Fakultas Kedokteran Hewan. Halm: 35.
- Bhutta ZA, Khan IA, dan Molla AM. 1994. Therapy of multidrug-resistant typhoid fever with oral cefixime vs. intravenous ceftriaxone. *Pediatr Infect Dis Journal*.; 13 : 990-4.
- Borong, Mayta. 2012. *Kerasionalan Penggunaan Antibiotik pada Pasien Rawat Inap Anak Rumah Sakit M.M Dunda Limboto Tahun 2011*. Gorontalo: Fakultas Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan, Jurusan Farmasi. Universitas Gorontalo.
- Boyd W. 1962. *A Textbook of Pathology Structure and Function in Disease*. 7th Ed. Philadelphia: Lea dan Febiger.
- Brooks, G.F., J.S, Butel, dan S.A, Morse. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi ke- 23*. Jakarta: EGC.
- Brown, A. E. 2005. *Benson's Microbiological Applications Short Version: Laboratory Manual In General Microbiology*. 9th Ed. New York: McGraw Madison Departement of Bacteriology.
- Budiawan, I. G. O., Suwiti, I. P. Suwantika dan I. N. K. Besung. 2013. Pengaruh Pemberian Pegagau (*Catella asiatica*) terhadap Gambaran Mikroskopis Limpa Mencit yang Diinfeksi *Salmonella typhi*. *Buletin Veteriner Udayana*. Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Bali. 5(1): 15-21.
- Carter, G.R dan Wise, D.J. 2004. *Essentials of veterinary bacteriology and mycology*, sixth Edition. Iowa State Press. Iowa, USA.
- Chandra, Andy, Hie Maria Inggrid, dan Verawati. 2013. *Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpukat*. Universitas Katolik Parahyangan: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat.
- Chen C. J. dan Y. C. Huang. 2014. New Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 20 No. 7.

- Cheville N.F. 1999. *Introduction to Veterinary Pathology. 2nd ed.* United State Of America: Iowa State University Press
- Dasuki, Undang Ahmad. 1991. *Sistematik Tumbuhan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati.* Bandung: ITB.
- DeLeo F. R., Diep B. A., dan Otto M. 2009. Host Defense and Pathogenesis in *Staphylococcus aureus* Infection. *Infect Disease Clin North Am.* Vol. 23. No. 1.
- Dellman H.D. dan Brown E.M. 1992. *Buku Teks Histologi Veteriner II.* Ed ke-3 Hartono, penerjemah. Jakarta: UI Press.
- Dewi, Amalia Krishna. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner.* Vol 32. No. 2.
- Dewi, Laorizia Firmasari. 2008. Studi Histopatologi Pengaruh Infeksi *Enterobacter sakazakii* Dengan Rute Intraperitoneal Pada Mencit (*Mus musculus*) Neonatus. *Skripsi.* Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Dewi, S. R. dan Sulistyowati. 2013. Penggunaan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai Antibakteri *Proteus mirabilis* dan *Aerobacter aerogenes*. *Stigma.* Vol. 6. No. 2.
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Jakarta: Djambatan.
- Enrica, Maria, Nina Tristina, dan Anna Tjandrawati. 2014. Rerata Volume Trombosit di Diabetes Melitus. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory.* Vol. 21, No. 1.
- Eroschenko, V. P. 2010. *Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi Fungsional.* Jakarta: EGC.
- Estiasih, Teti dan Dwi Andiyas Kurniawan. 2006. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Akar Ginseng Jawa (*Talinum triangulare* Wild.). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* Vol. XVII No. 3.
- FK UGM. 2014. Prosedur Bekerja di Ruang Hewan Coba Bagian Farmakologi dan Terapi. <http://research.fk.ugm.ac.id/index.php/data/laboratorium/48-laboratorium-hewan-coba> (diakses pada tanggal 18 Maret 2017).
- Girindra A. 1988. *Biokimia Patologi Hewan.* Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Gordon Rachel J. and Lowy D. Franklin. 2008. Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Journal of Clinical Infectious Disease.* 46(1):S350-S359.

- Guenther, E., 2006. *Minyak Atsiri. Jilid 1*, penerjemah Ketaren S. Jakarta: Penerbit UI Press.
- Gunawan, Aditya Sesilia. 2008. Pengaruh Akut Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Akar Senggugu (*Clerodendron serratum* Spreng.) Terhadap Gambaran Histopatologis Hepar Mencit *balb/c*. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Guyton A.C. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Irawati Setiawan, penerjemah. Jakarta: EGC.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman AntingAnting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Han, H.R., Park, S.I., Kang, S.W., Jong, W.S. dan Youn, C.J. 2000. Capsular Polisaccharide Typing of Domestic Mastitis-Causing *Staphylococcus aureus* Strains And Its Potential Exploration Of Bovine Mastitis Vaccine Development. I. Capsular Polysaccharide Typing, Isolation and Purification of The Strain. *Journal Veteriner Science*. 1: 53 -63.
- Hanafiah, K. A. 1993. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- Handayani A.P. dan Citra Hika. 2009. *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Biji Alpukat (Perseae Americana Mill) Terhadap Formula Sabun Transparan*. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Hal : 20, 22, 34, 40- 44, 46.
- Handoko, L. 2005. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Apium graviolens* terhadap Perubahan SGOT/SGPT Tikus Wistar Jantan yang Dipapar Karbon Tetraklorida. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Harada T, Enomoto A, Boorman G, Maronpot RR. Liver dan Gallbladder. In: Maronpot RR. 1999. *Pathology of The Mouse. Reference and Atlas. 1st Ed*. Viena: Cache River Press.
- Hard G.C. 2008. Some Aids to Histological Recognition of Hyaline Droplet Nephropathy in Ninety-Day Toxicity Studies. *Journal of Toxicology Pathology*. 36: 1014-1017. <http://tpx.sagepub.com>
- Hartono. 1989. *Histologi Veteriner*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

- Hartono. 1992. *Histologi Veteriner Organologi*. Jilid II. Laboratorium Histologi. Jurusan Anatomi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Hendra, P., Gidion Krisnadi G., Ni Luh Putu D. P., Ike Kumalasari, dan Yuditha A. Q. 2014. Hepatoprotective and Nephroprotective Effects of Avocado Seeds Against Carbon Tetrachloride in Rats. *Trad Med. J.* Vol. 19(3), p 133-137.
- Herdt T. 2002. *Gastrointestinal Physiology and Metabolism*. In: *Cunningham Textbook Veterinary Physiology*. 3th Ed. Philadelphia: WB Saunders Company.
- Herlina. 2010. Pengaruh Senyawa Murni Dari Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Fungsi Kognitif Belajar Dan Mengingat Dan Efek Toksisitas Pada Mencit (*Mus musculus*) Betina. *Makalah Seminar*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Horowitz, E. 2005. *Guidelines for the control of MRSA*. Oklahoma USA: State Health Department.
- Hu D.L., Omoe K., Inoue F., Kasai T., Yasujima M., Shinagawa K., dan Nakane. 2008. A Comparative Prevalence Of Superantigenic Toxin Genes In Meticillin Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Medical Microbiology*. 57 9): 1106-12.
- Irawan D., Hamidah, Purwati, Triyono E. A., Bramantono, Arfianto V., dkk. 2012 Profil Penderita Sepsis Akibat Bakteri Penghasil ESBL. *Jurnal Penyakit Dalam*. 13(1):63-8.
- Irianto, Koes. 2006. *Mikrobiologi*. Bandung: Yrama Widya.
- Iskandar, T., D. T. Subekti dan E. F. Diani. 2006. Gambaran Splenosit Limpa dan Kekebalan Pada Mencit Galur *Balb/c* Yang Diberi Alantonin dan Diinfeksi *Toxoplasma gondii*. *Balai Penelitian Veteriner Bogor*. 1074-1080.
- Jauziyah, Ibnu Qayyim. 1994. *Sistem Kedokteran Nabi: Kesehatan dan Pengobatan Menurut Petunjuk Nabi Muhammad SAW*. Diterjemahkan oleh Dr. H. Said Agil Husain al-Munawwar M. Semarang: PT. Karya Toha Putra.
- Jawetz E, J.L. Melnick dan A.E. Aldelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Ed ke-20*. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi XXII*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Jones TC, Ronald DH, dan Norval WK. 2006. *Veterinary Pathology*. 6th Ed. USA: Blackwell Publishing Profesional.

- Jubb KVF, Kennedy PC, dan Palmer N. 1993. *Pathology of Domestic Animal*. 4th Ed. 2nd Vol. London: Academic Press.
- Junqueira, L.C. dan Carneiro J. 1989. *Histologi Dasar*. Edisi ke-3. Terjemahan Adji Dharma. Jakarta: EGC. P: 182 – 186.
- Junqueira, L.C. dan Carneiro, J. 2005. *Basic Histology text and atlas. Eleventh edition*. Jakarta: EGC.
- Karlina, Chrystie Yudha, Muslimin Ibrahim dan Guntur Trimulyono. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*. Vol. 2. No. 1.
- Katja, Dewa Gede, Edi Suryanto, dan Frenly Wehantouw. 2009. Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Chem. Prog Vol. 2. No.1*.
- Khasanah, Nur. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Respon Proliferasi Limfosit Limpa Mencit Balb/c Yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Khusnan, Wahyu, P., Hartatik, dan Mitra Slipranata. 2016. Karakterisasi Faktor-faktor Virulensi *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Peranakan Ettawa secara Fenotip dan Genotip. *Jurnal Sain Veteriner*. 34(1). ISSN: 0126-0421.
- Kobayashi, Scott D., Natalia M., dan DeLeo, F.R. 2015. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Abscesses. *The American Journal of Pathology*. Vol. 185 No. 6.
- Kusnaeni, V. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Fraksi nHeksana dari Ekstrak Kulit Batang Angret (*Spathoda campanulata* Beauv.). *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas MIPA. Malang: Universitas Brawijaya.
- Kusuma, Meike Tiya. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Secara *In Silico* dan Pengaruhnya Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Jaringan Kulit Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Kusumanigrum, Dian. 2006. Pengaruh Pemberian Rebusan Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Jumlah Kuman Pada Limpa Mencit Balb/c Yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Leeson C.R. dan T.S. Leeson. 1989. *Human Structure*. Philadelphia: B.C. Decker Inc.

- Leeson C.R., T.S. Leeson, dan A.A. Paparo. 1993. *Atlas Histologi*. Jakarta: Bina Rupa Aksara.
- Leite, J.J.G., Brito, E.H.S., Cordeiro, R.A., Brilhante, R.S.N., Sidrim, J.J.C., Bertini, L.M., Morais, S.M.D., dan Rocha, M.F.G. 2009. Chemical Composition, Toxicity and Larvacidal and Antifungal Activities of *Persea americana* (Avocado) Seed Extract. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Vol. 2. No. 42. P. 110-113
- Liu, G.Y., Essex, A., Buchanan, J.T., Datta, V., Hoffman, H.M., Bastian, J.F., Fierer, J. dan Nizet, V. 2005. *Staphylococcus aureus* Golden Pigment Impairs Neutrophil Killing And Promotes Virulence Through Its Antioxidant Activity. *Journal Exp. Medical*. 202: 209- 215.
- Lowy, D. Franklin. 1998. *Staphylococcus aureus* Infection. *The New England Journal of Medicine*. Vol. 339, No.8.
- Lu, F.L. 1995. *Toksikologi Dasar Edisi 2*. Jakarta: UI Press
- Makiyah, S.N., R. Iszamriach, dan A. Nofariyandi. 2014. *Paparan Ultraviolet C Meningkatkan Diameter Pulpa Alba Limpa dan Indeks Mitotik Epidermis Kulit Mencit*. Yogyakarta: kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Malole M.B.M., dan Pranomo C.S.U. 1989. *Penggunaan Hewan – Hewan Percobaan di Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor: IPB FKH. Halm: 28-45.
- Maretnowati, Nuke. 2004. Uji Toksisitas Akut dan Subakut Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Air Kulit Batang *Artocarpus champeden* Sperng Dengan Parameter Histopatologi Hepar Mencit. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Maslak, Peter. 2011. Megakaryocyte. *Image Bank American Society of Hematology*. <http://imagebank.hematology.org/image/4141> (diakses pada tanggal 9 November 2017)
- McGavin M. Donald dan Zachary, James F. 2007. *Pathologic Basic of Veterinary Disease*. China: Mosby, Inc. P:12-17.
- Mebius R. E. dan Kraal G. 2005. Structure and Function of The Spleen. *Nat Rev Immunol*. 5:606–16
- Meloan, C. E. 1999. *Chemical Separations: Principles, Techniques and Experiments*. New York: Jhon Willey and Sons, Inc.

- Memmi, G., Filipe SR, Pinho MG, Fu Z, dan Cheung A. 2008. *Staphylococcus aureus* PBP4 Is Essential For Beta-Lactam Resistance In *Community Acquired Methicillin-Resistant Strains*. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(11): 3955-66.
- Mitchell, R.N., Kumar, V., Abbas, A.K., dan Fausto, N. 2008. *Adaptasi Sel, Jejas Sel, dan Kematian Sel. Dalam: Buku Saku Dasar Patologis Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Monica, F. 2006. Pengaruh Pemberian Air Seduhan Serbuk Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diberi Beban Glukosa. *Skripsi*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Mufidah, Zumrotul, Muhaimin Rifa'i, dan Sri Rahayu. 2013. Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Buah Mengkudu pada Mencit yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Veteriner*. Vol. 14, No. 4: 501-510.
- Mukono. 2005. *Toksikologi Lingkungan*. Surabaya: Airlangga University Press
- Muntiha, Mohamad. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (HE). *Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Murray, Patrick R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., dan Tenover, R.H. 1999. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th Edition. America Society for Microbiology. Esai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
- Murray, R. K. 2003. *Biokimia Harper*. Jakarta: EGC.
- Nakamura, Y., Jon O., Kemp B. C., Susana M. C., Raul M. P Mizuho H., dkk. 2013. *Staphylococcus* δ -toxin Induces Allergic Skin Disease by Activating Mast Cells. *LETTER*. Vol. 000.
- Nazaruddin dan Fauziah Muchlisah. 1994. *Buah Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nielsen, Ole L, Tine I., Bent A., Pall S. L., Jorgen S. A., Peter H., dkk. 2009. A Pig Model of Acute *Staphylococcus aureus* Induced Pyemia. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 51:14.
- Novalina, Dhiah, Sugiyarto, dan Ari Susilowati. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Carica Pubescens* Dari Dataran Tinggi Dieng Terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Diare. *El-Vivo Vol.1, No.1*.
- Nurwantoro dan Abbas, S. 2001. *Mikrobiologi Pangan Hewani Nabati*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

- Oefner, C., Monica B., Andreas H., Heike L., Henk S., Seema M., dkk. 2009. Increased Hydrophobic Interactions of Iclaprim with *Staphylococcus aureus* Dihydrofolate Reductase are Responsible for The Increase in Affinity and Antibacterial Activity. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 63. No. 4.
- Ote, I., Taminiau, B., Duprez, J.N., Dizier, I., dan Mainil, J. G. 2011. Genotypic Characterization by Polymerase Chain Reaction of *Staphylococcus aureus* Isolates Associated With Bovine Mastitis. *Vet. Microbiol.* 153: 285–292.
- Ozolua, R. I., 2009, Acute and Sub-Acute Toxicological Assesment of the Aqueous Seed Extract of *Persea americana* Mill. *Afr J Trad CAM.*, 6 (4): 573-578.
- Panjaitan, Putri Ganda Ruqiah. 2007. Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus. *Makara Kesehatan*, Vol. 11, No. 1: 11-16.
- Peacock, S.J., Moore, C.E., Justice, A., Kantzanou, M., Story, L., Mackie, K., O'Neill, G. dan Day, N.P.J. 2002. Virulent Combinations of Adhesion and Toxin Genes in Natural Populations of *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.* 70: 4987–4996.
- Pearce, Evelyn C. 2009. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Umum.
- Pelczar, Michael J. dan E.S Chan, 1996. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Perry, L.M. 1978. *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. London: The MIT Press.
- Plata, K., Rosato, A.E. dan Wegrzyn, G. 2009. *Staphylococcus aureus* as an Infectious Agent: Overview of Biochemistry and Molecular Genetics of Its Pathogenicity. *Acta Biochemica Polonica*. 56(4): 597–612.
- Poeloengan M, Pratiwi. 2010. Antibacterial activity test of mangosteen (*Garcinia mangostana* linn). *Media Litbang Kesehatan*. XX(2): 65-9
- Prasetyo A, Gelu M.F.D., Yosefeta R., Nugroho D.A., dan Kurniasari T. 2005. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Pheretima aspergillum* Terhadap Perubahan Histopatologik Ileum, Hepar, Vesika Fellea Dan Lien Pada Tikus Balb/ yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *M Med Indones*. 40: 36-44.
- Prasetyowati, Retno Pratiwi dan Fera Tris O. 2010. Pengambilan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) dengan Metode Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. 17. No. 2.

- Putera, M. P. A. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* Descourt) terhadap Isolat Klinis Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Syiah Kuala Aceh.
- Putri, Luthpi Widya, Umi Y., dan Siti Hazar. 2015. Uji Efek Antihyperglikemia Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat dan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Swiss Webster yang Diinduksi Aloksan. *Prosiding Penelitian SPeSIA UNISBA*. ISSN 2460-6472.
- Qarni, 'Aidh. 2008. *Tafsir Muyasar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Quthb, Sayyid. 2002. *Tafsir Fi Zhilalil Qur'an*. Penerjemah As'ad Yasin dkk. Jakarta: Gema Insani.
- Rahardjo, Tur., Siti Nurhayati, dan Dwi Ramadhani. 2013. Studi Histopatologi Limpa Mencit Pasca Infeksi *Plasmodium berghei* Iradiasi Gamma Stadium Eritrositik. *Seminar Nasional VIII*. ISSN 1978-076.
- Rahayu, Yani Corvianindya. 2009. Respons Antiinflamasi Serbuk Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Jumlah PMN Neutrofil Mencit yang Diinduksi Bakteri *E. coli*. *Artikel Penelitian*.
- Ramesh, K.V. dan Padmavathi, K. 2010. Assessment of Immunomodulatory Activity of *Euphorbia hirta* L. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72 (5): 621-625, ISSN: 0250-474X.
- Refdanita, Maksum, Nurgani A, dan P. Endang. 2004. Pola Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotika di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Timur Tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan*. 8: 41-48
- Ressang A.A. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Ed ke-2. Denpasar: Bali Cattle Disease Investigation Unit.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Rosalina, Dewi, Sunarko Martodihardjo, dan Muhammad Yulianto Listiawan. 2010. *Staphylococcus aureus* sebagai Penyebab Tersering Infeksi Sekunder pada Semua Erosi Kulit Dermatitis Vesikobulosa. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. Vol. 22. No. 2.
- Sabat, A., Melles, D.C., Martirosian, G., Grundmann, H., Van Belkum, A. dan Hryniewicz, W. 2006. Distribution of The Serine-Aspartate Repeat Protein-Encoding sdr Genes Among Nasal-Carriage and Invasive *Staphylococcus aureus* Strains. *J. Clin. Microbiol*. 44: 1135-1138.

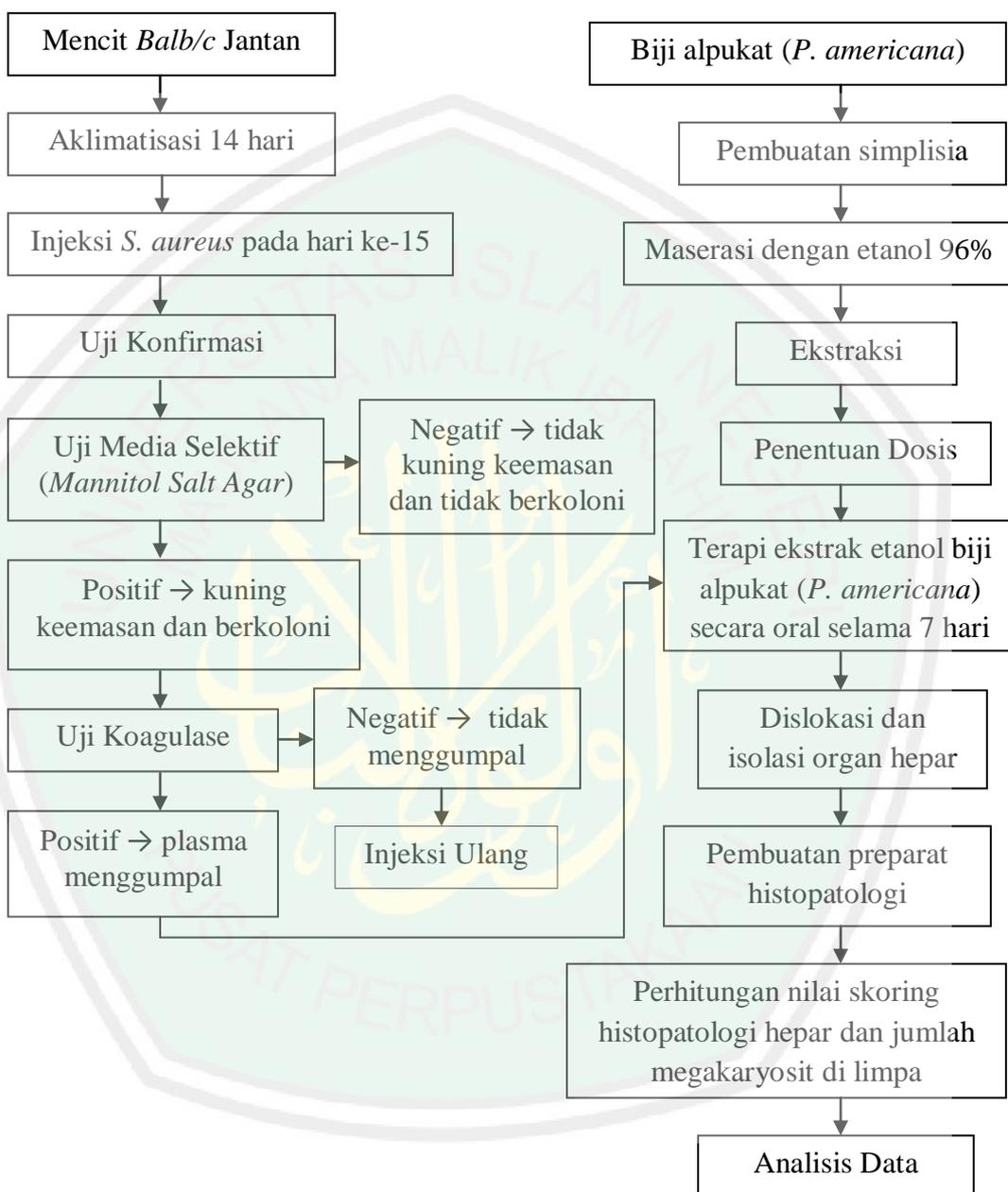
- Salah, W., Miller, N.J., Pangauga, T., Bolwell, G.P., Rice, E., dan Evans, C., 1995, Olyphenolic Flavonols As Scavengers Of Aqueous Phas radicals As Chainbreaking Antioxidant, *Arch. Biochem. Biorh*, pp. 2, 339-346.
- Sari, Putri Junita. 2015. Studi Awal: Histoteknik Perfusi PBS-Formalin dan Gambaran Histologi Organ Hepar, Pankreas, dan Ginjal Tikus Strain Sprague Dawley. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah..
- Sarjadi. 2003. *Patologi Umum Respon Sel terhadap Rangsang*. Semarang: Badan Penerbitan Universitas Diponegoro.
- Shahidi, F. dan Naczki, M., 2004. Extraction and Analysis of Phenolic in Food. *Journal of Chromatography A*. 1054: 95-111.
- Sharma A, dan Lokeshwar N. 2005. Febrile Neutropenia in Haematological Malignancies. *Journal Postgrad Med*. Suppl 1: S42-8.
- Sharma, S.K dan Naveen, G. 2011. Biological Studies of The Plants from Genus *Pluchea*. *Annals of Biological Research*, 2 (3): 25-34. India: Department of Pharmaceutical Sciences.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Vol. 7,8 dan 10. Jakarta: Lentera Hati.
- Short, M.A. 2004. Linking The Sepsis Triad of Inflammation, Coagulation, and Suppressed Fibrinolysis to Infants. *Adv Neonatal Care*, 5: 258-73.
- Siswandono, Bambang S. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Smith HA, Jones TC, dan Hunt RD. 1974. *Veterinary Pathology*. Ed ke-4. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Smith, H. T dan T. C. Jones. 1972. *Veterinary Pathology*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Song, Y. dan Barlow, P. J. 2004. Antioxidant Activity and Phenolic Content of Selected Fruit Seeds. *Food Chem* 88(3):411– 417.
- Spector W.G. dan Spector T.D. 1993. *Pengantar Patologi Umum*. Ed ke-3. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Spicer W.J. 2000. *Clinical Bacteriology, Mycology, and Parasitology: an Illustrated Colour Text*. London: Harcourt Publishers Limited.
- Steenis, C. G. dan G. J. Van. 2003. *FLORA Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.

- Sutra, L. dan Poutrel, B. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus* *Journal Medical Microbiology*. 40: 79-89.
- Sutrisna, E., Fitriani, Anisa A., Setiawati, Salim, I.A., Maskoen, A.M., Sutano, M., dan Satramihardja, H.S. 2013. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Sendok (*Plantago major* L.) Pada Tikus Model Hepatotoksik: Tinjauan Anatomi dan Histopatologi. *Pharmacy*. Vol. 10. No.01.
- Sutrisna, EM, Tanti Azizah, dan Yunita EO. 2015. The Hypoglycemic Effect of Avocado Seed (*Persea americana* Mill.) and Histopathologic Profile. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 6(4): 136-141.
- Syahrizal, D. 2008. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase Dan Gambaran Histopatologi Hati Mencit Yang Dipapar Plumbun. *Tesis Diterbitkan*. Medan: Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatra Utara Medan.
- Syahrurachman, Agus, Aidilfiet Chartim, dan Amin Subandrio. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Syuyuthi, Jalaluddin dan Jalaluddin Muhammad bin Ahmad al-Mahalliy. 1990. *Tafsir Jalalain*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Tanaka, A., M. Matsumoto, A. Nakagiri, S. Kato dan K. Takeuchi. 2013. Flavonoid for effect NSAID-induced Intestinal Damage: Role of COX Inhibition. *Inflammopharmacology*, 10 (4-6): 313-325.
- Thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2008. *Jami' al- Bayan an Ta'wil Ayi al-Qur'an, penerjemah: Abdul Somad, Yusuf Hamdani, dkk, jilid 3, 12, 13, 21*, Jakarta: Pustaka Azzam.
- Thomas C. 1979. *Colour Atlas and Textbook of Histopathology*. 7th Ed. Chicago: Richter G. W YearBook Medical Publishes, Inc.
- Tizard I.R. 1988. *Veterinary Immunology an Introduction*. 3th Ed. Masduki P, Penerjemah. Surabaya: Airlangga University Press.
- Tizard I.R. 2004. *Veterinary Immunology an Introduction*. 7th Ed. USA: WB Saunders Company.
- Todar, K. 1998. *Bacteriology 330 Lecture Topics: Staphylococcus*. Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Bacteriology. USA: Wisconsin.
- Todar, K. 2005. *Staphylococcus aureus*. Madison (USA): University of Wisconsin.
- Tuminah S. 2000. Radikal Bebas dan Antioksidan : Kaitannya dengan Nutrisi dan Penyakit. *Cermin Dunia Kedokteran*. 128: 49-50.

- Vogel. 1978. *Text Book of Practical Organic Chemistry, 4th Edition*. London: Longman Group Limited.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt.* Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Volk W.A. dan Wheeler M.F. 1993. *Basic Microbiology*. Jilid 2. Jakarta: Erlangga.
- Ward J.M., Mann P.C., Morishima H., dan Frith C.H. 1999. *Thymus, Spleen, and Lymph Nodes. Di dalam: Maronpot RR, GA Boorman, BW Gaul, Editor. Pathology of Mouse Reference and Atlas*. Viena: Cache River Press.
- Wiant, C. 2002. *Medicinal Plants of Southeast Asia*. Malaysia: Prentice Hall.
- Widjajanto, Edi. 2005. Peranan Makrofag Pada Proliferasi, Diferensiasi Dan Apoptosis Pada Proses Hematopoesis (Penelitian Pada Limpa Janin Tikus Dan Aspirat Sumsum Tulang Manusia). *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol. XXI. No. 1.
- Wijayakusuma, H., S. Dalimartha dan A. S. Wirian. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Jilid IV. Cet. Kedua*. Jakarta: Pustaka Kartini
- Wilson, Lester. 1992. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Buku I. Edisi ke-4. Sylvia AP & Lorraine MW, editor. Peter A, penerjemah. Jakarta: EGC.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wirahjasa, I Gede Nova dan Putu Agus Surya Panji. 2012. Pengelolaan Infeksi Akibat *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Majalah Kedokteran Terapi Intensif*. Vol 2. No. 3.
- Yulia, Alvira R. 2013. *Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) Terhadap Jumlah Fibroblas Pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Pasca Induksi Porphyromonas gingivalis*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Yuwono. 2010. Pandemi Resistensi Antimikroba: Belajar dari MRSA. *JKK*. Vol. 42, No. 1
- Zakinah, Choirus. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*) Terhadap Jumlah Koloni Bakteri Pada Limpa Dan Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinfeksi *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Penentuan dan Perhitungan Dosis

2.1 Dosis Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Penyiapan suspensi dosis ekstrak etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan perhitungan sebagai berikut:

Faktor konversi tikus (200g) → mencit (20g) = 0,14

1. Dosis 600 mg/kgBB

$$\text{Dosis untuk 200 gram tikus} = 200 \text{ g} \times \frac{600 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = 120 \text{ mg}/200 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk 20 gram mencit} &= 120 \text{ mg} \times \text{faktor konversi} \\ &= 120 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 16,8 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk 25 gram mencit} &= \frac{\text{berat rata-rata}}{\text{berat normal}} \times \text{dosis normal} \\ &= \frac{25 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 16,8 \text{ mg} \\ &= 21 \text{ mg} = 0,021 \text{ g} \end{aligned}$$

Jadi konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk tiap ekor mencit yaitu 0,021 g/ml. Digunakan 5 ekor mencit untuk tiap kelompok perlakuan dengan dosis 600 mg/kgBB.

$$0,5 \text{ ml} \times 5 \text{ ekor} = 2,5 \text{ ml}$$

Sehingga berat ekstrak yang dibutuhkan untuk 1 kelompok perlakuan ini yaitu $0,021 \text{ g/ml} \times 2,5 \text{ ml} = 0,0525 \text{ gram}$

Jadi ekstrak sebanyak 0,0525 gram yang dilarutkan dalam 2,5 ml aquades, disondekan pada 5 ekor mencit masing-masing 0,5 ml untuk memperoleh dosis sebesar 600 mg/kgBB.

2. Dosis 1200 mg/kgBB

$$\text{Dosis untuk 200 gram tikus} = 200 \text{ g} \times \frac{1200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} = 240 \text{ mg}/200 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk 20 gram mencit} &= 120 \text{ mg} \times \text{faktor konversi} \\ &= 240 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 33,6 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk 25 gram mencit} &= \frac{\text{berat rata-rata}}{\text{berat normal}} \times \text{dosis normal} \\ &= \frac{25 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 33,6 \text{ mg} \\ &= 42 \text{ mg} = 0,042 \text{ g} \end{aligned}$$

Jadi konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk tiap ekor mencit yaitu 0,042 g/ml. Digunakan 5 ekor mencit untuk tiap kelompok perlakuan dengan dosis 1200 mg/kgBB.

$$0,5 \text{ ml} \times 5 \text{ ekor} = 2,5 \text{ ml}$$

Sehingga berat ekstrak yang dibutuhkan untuk 1 kelompok perlakuan ini yaitu $0,042 \text{ g/ml} \times 2,5 \text{ ml} = 0,105 \text{ gram}$

Jadi ekstrak sebanyak 0,105 gram yang dilarutkan dalam 2,5 ml aquades, disondekan pada 5 ekor mencit masing-masing 0,5 ml untuk memperoleh dosis sebesar 1200 mg/kgBB.

2.2 Dosis Antibiotik Helixim

Dosis helixim untuk manusia sebesar 200 mg/kgBB, sehingga dosis untuk mencit dikonversikan dari dosis manusia, yaitu:

$$200 \text{ mg/kgBB} \times 0,0026 = 0,52 \text{ mg}/20 \text{ gBB} = 0,00052 \text{ g}/20 \text{ gBB}.$$

Jadi diperoleh dosis 0,00052 g untuk satu ekor mencit. Volume yang disondekan sebanyak 0,5 ml per mencit yang dilarutkan dengan aquades

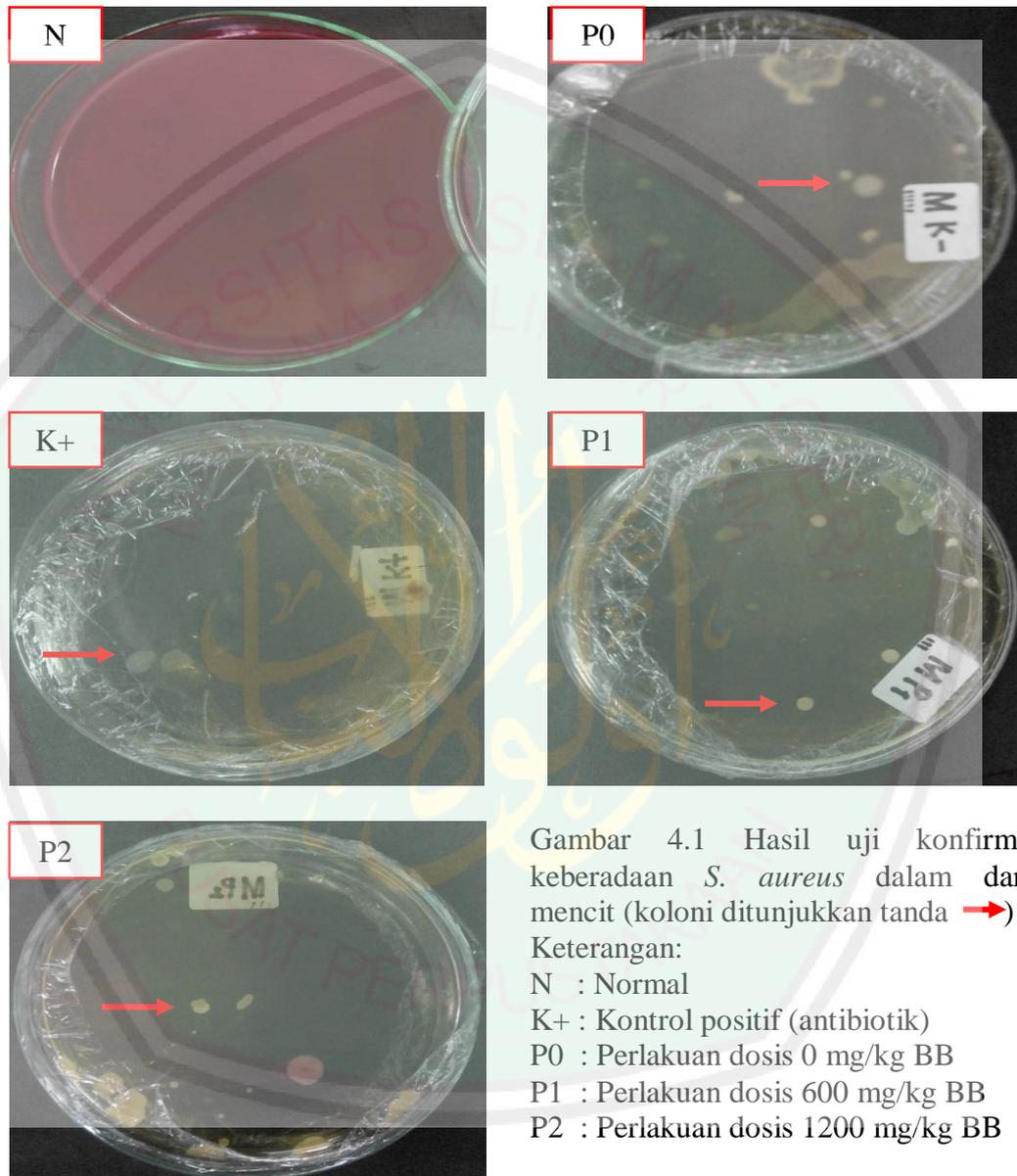
Jadi konsentrasi helixim yang dibutuhkan untuk tiap ekor mencit yaitu 0,00052 g/ml. Digunakan 5 ekor mencit untuk tiap kelompok perlakuan

$$0,5 \text{ ml} \times 5 \text{ ekor} = 2,5 \text{ ml}$$

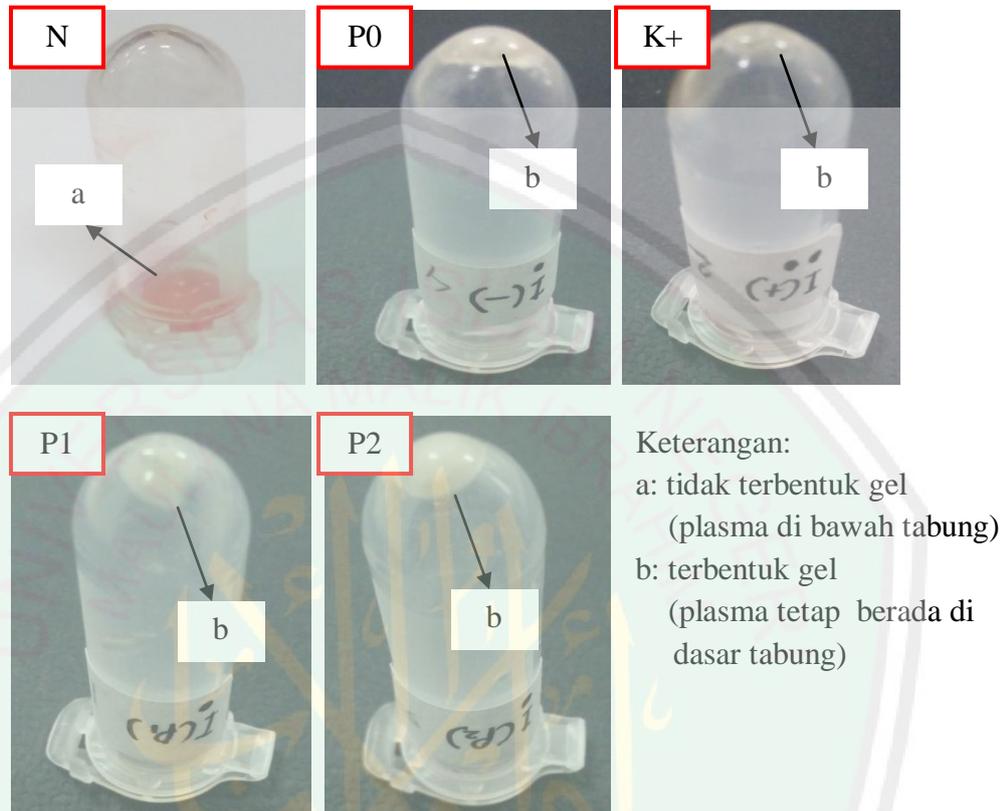
Berat helixim yang dibutuhkan yaitu $0,00052 \text{ g/ml} \times 2,5 \text{ ml} = 0,0013 \text{ gram}$.

Lampiran 3. Uji Konfirmasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

3.1 Hasil Uji Media Selektif



3.2 Hasil Uji Koagulase



Gambar 4.2. Hasil Uji Koagulase

Keterangan:

- N : Normal
- K+ : Kontrol positif (antibiotik)
- P0 : Perlakuan dosis 0 mg/kg BB
- P1 : Perlakuan dosis 600 mg/kg BB
- P2 : Perlakuan dosis 1200 mg/kg BB

Lampiran 4. Data Hasil Pengamatan Histopatologi Hepar

4.1 Hasil Skoring Kerusakan Sel Hepar

a. Normal

Ulangan	Skor	Lapang pandang (n)					Total (n)	Nilai Skor	Skor Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5				
1	H	18	10	13	11	14	66	66	153	152,80
	DP	0	7	4	6	4	21	42		
	DH	2	2	2	1	0	7	21		
	N	0	1	1	2	2	6	24		
2	H	14	13	14	14	16	71	71	146	
	DP	1	4	5	5	2	17	34		
	DH	3	2	0	0	2	7	21		
	N	2	1	1	1	0	5	20		
3	H	6	14	14	15	14	63	63	159	
	DP	7	5	6	4	4	26	52		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	N	7	1	0	1	2	11	44		
4	H	15	12	16	16	13	72	72	139	
	DP	5	6	3	3	5	22	44		
	DH	0	1	0	0	0	1	3		
	N	0	1	1	1	2	5	20		
5	H	10	11	5	12	11	49	49	167	
	DP	7	7	14	8	8	44	88		
	DH	1	1	0	0	0	2	6		
	N	2	1	1	1	1	6	24		

Keterangan.

- Nilai skor total = $H + 2DP + 3DH + 4N$
- Dimana : H = sel hepatosit normal
DP = degenerasi Parenkimatosa
DH = degenerasi Hidropik
N = nekrosis
- Rata-rata skor total = skor total dari 5 ulangan pada perlakuan dijumlahkan kemudian dibagi 5
- Contoh perhitungan :
Ulangan 1 → total (n) : H=66, DP=21, DH=7, N=6
Nilai skor total = $H + 2DP + 3DH + 4N$
= $66 + 2(21) + 3(7) + 4(6)$
= $66 + 42 + 21 + 24$
= **153**

b. Kontrol Antibiotik (K+)

Ulangan	Skor	Lapang Pandang (n)					Total (n)	Nilai Skor	Skor Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5				
1	H	3	7	2	6	8	26	26	179	154,60
	DP	16	13	18	13	11	71	142		
	DH	0	0	0	0	1	1	3		
	N	1	0	0	1	0	2	8		
2	H	8	13	13	16	11	61	61	156	
	DP	6	2	7	0	8	23	46		
	DH	5	5	0	4	1	15	45		
	N	1	0	0	0	0	1	4		
3	H	10	11	10	13	9	53	53	150	
	DP	9	9	10	7	10	45	90		
	DH	1	0	0	0	0	1	3		
	N	0	0	0	0	1	1	4		
4	H	13	11	14	14	15	67	67	136	
	DP	6	9	5	6	4	30	60		
	DH	1	0	1	0	1	3	9		
	N	0	0	0	0	0	0	0		
5	H	10	16	9	11	13	59	59	152	
	DP	6	3	11	7	6	33	66		
	DH	4	0	0	1	0	5	15		
	N	0	1	0	1	1	3	12		

Keterangan.

- Nilai skor total = $H + 2DP + 3DH + 4N$
- Dimana : H = sel hepatosit normal
DP = degenerasi Parenkimatosa
DH = degenerasi Hidropik
N = nekrosis
- Rata-rata skor total = skor total dari 5 ulangan pada perlakuan dijumlahkan kemudian dibagi 5

c. Perlakuan dosis 0 (P0)

Ulangan	Skor	Lapang Pandang (n)					Total (n)	Nilai Skor	Skor Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5				
1	H	13	10	11	10	11	55	55	165	188.00
	DP	6	8	0	9	8	31	62		
	DH	1	1	5	1	0	8	24		
	N	0	1	4	0	1	6	24		
2	H	5	9	9	4	9	36	36	202	
	DP	2	8	6	13	3	32	64		
	DH	9	3	4	3	7	26	78		
	N	4	0	1	0	1	6	24		
3	H	5	5	7	7	7	31	31	215	
	DP	8	7	5	3	10	33	66		
	DH	6	4	7	8	1	26	78		
	N	1	4	1	2	2	10	40		
4	H	9	7	13	9	5	43	43	177	
	DP	5	11	5	8	14	43	86		
	DH	5	0	1	1	1	8	24		
	N	1	2	1	2	0	6	24		
5	H	7	9	5	5	7	33	33	181	
	DP	9	10	13	15	10	57	114		
	DH	3	1	0	0	2	6	18		
	N	1	0	2	0	1	4	16		

Keterangan.

- Nilai skor total = $H + 2DP + 3DH + 4N$
- Dimana : H = sel hepatosit normal
DP = degenerasi Parenkimatosa
DH = degenerasi Hidropik
N = nekrosis
- Rata-rata skor total = skor total dari 5 ulangan pada perlakuan dijumlahkan kemudian dibagi 5

d. Perlakuan dosis 1 (P1)

Ulangan	Skor	Lapang Pandang (n)					Total (n)	Nilai Skor	Skor Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5				
1	H	16	12	12	11	11	62	62	140	152,00
	DP	3	7	8	9	9	36	72		
	DH	1	1	0	0	0	2	6		
	N	0	0	0	0	0	0	0		
2	H	9	11	12	11	5	48	48	167	
	DP	9	7	8	7	12	43	86		
	DH	1	0	0	0	2	3	9		
	N	1	2	0	2	1	6	24		
3	H	10	11	9	14	11	55	55	149	
	DP	10	9	11	6	6	42	84		
	DH	0	0	0	0	2	2	6		
	N	0	0	0	0	1	1	4		
4	H	7	13	9	12	13	54	54	153	
	DP	11	7	9	8	6	41	82		
	DH	1	0	1	0	1	3	9		
	N	1	0	1	0	0	2	8		
5	H	16	10	7	12	10	55	55	151	
	DP	3	9	13	8	9	42	84		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	N	1	1	0	0	1	3	12		

Keterangan.

- Nilai skor total = $H + 2DP + 3DH + 4N$
- Dimana : H = sel hepatosit normal
DP = degenerasi Parenkimatosia
DH = degenerasi Hidropik
N = nekrosis
- Rata-rata skor total = skor total dari 5 ulangan pada perlakuan dijumlahkan kemudian dibagi 5

e. Perlakuan dosis 2 (P2)

Ulangan	Skor	Lapang Pandang (n)					Total (n)	Nilai Skor	Skor Total	Rata-rata
		1	2	3	4	5				
1	H	15	13	14	11	10	63	63	141	148,80
	DP	5	6	6	8	9	34	68		
	DH	0	1	0	0	1	2	6		
	N	0	0	0	1	0	1	4		
2	H	9	10	11	13	11	54	54	148	
	DP	9	10	9	7	9	44	88		
	DH	2	0	0	0	0	2	6		
	N	0	0	0	0	0	0	0		
3	H	12	10	11	11	11	55	55	152	
	DP	8	7	8	9	8	40	80		
	DH	0	1	1	0	1	3	9		
	N	0	2	0	0	0	2	8		
4	H	10	8	7	12	11	48	48	154	
	DP	10	12	12	8	9	51	102		
	DH	0	0	0	0	0	0	0		
	N	0	0	1	0	0	1	4		
5	H	13	13	7	12	13	58	58	149	
	DP	7	4	12	8	7	38	76		
	DH	0	1	0	0	0	1	3		
	N	0	2	1	0	0	3	12		

Keterangan.

- Nilai skor total = $H + 2DP + 3DH + 4N$
- Dimana : H = sel hepatosit normal
DP = degenerasi Parenkimatosa
DH = degenerasi Hidropik
N = nekrosis
- Rata-rata skor total = skor total dari 5 ulangan pada perlakuan dijumlahkan kemudian dibagi 5

4.2 Hasil Analisis Statistik Skoring Kerusakan Sel Hepar

a. Uji Normalitas dengan Kolmogorov Smirnov Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	19.09666201
Most Extreme Differences	Absolute	.229
	Positive	.229
	Negative	-.102
Kolmogorov-Smirnov Z		1.146
Asymp. Sig. (2-tailed)		.145

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas Lavene

Test of Homogeneity of Variances

Kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.214	4	20	.104

c. Mean \pm Standard deviation

Descriptives

Kerusakan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
N	5	152.80	10.918	4.883	139.24	166.36	139	167
K+	5	154.60	15.582	6.969	135.25	173.95	136	179
P0	5	188.00	20.149	9.011	162.98	213.02	165	215
P1	5	152.00	9.747	4.359	139.90	164.10	140	167
P2	5	148.80	4.970	2.223	142.63	154.97	141	154
Total	25	159.24	19.158	3.832	151.33	167.15	136	215

d. One Way Anova Kerusakan Sel Hepar

ANOVA

Kerusakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5257.760	4	1314.440	7.404	.001
Within Groups	3550.800	20	177.540		
Total	8808.560	24			

e. Post Hoc Test

Kerusakan

Duncan

Perlakuan	N	Subset	
		1	2
P2	5	148.80 (a)	
P1	5	152.00 (a)	
N	5	152.80 (a)	
K+	5	154.60 (a)	
P0	5		188.00 (b)
Sig.		.536	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 177.540.

Lampiran 5. Data Hasil Pengamatan Histopatologi Limpa

5.1 Perhitungan Jumlah Megakaryosit pada Limpa

a. Kontrol Normal

Lapang Pandang	Ulangan				
	1	2	3	4	5
1	1	3	0	1	2
2	1	1	2	3	2
3	2	0	3	3	3
4	0	2	3	2	1
5	0	2	1	2	1
6	0	1	0	0	0
7	0	1	1	0	0
8	1	2	0	4	8
9	0	0	3	2	1
10	3	2	1	3	1
Total	8	14	14	20	19
Rata-rata	15,00				

b. Kontrol Positif (Kontrol Antibiotik)

Lapang Pandang	Ulangan				
	1	2	3	4	5
1	0	0	0	1	1
2	0	1	0	1	0
3	1	2	1	0	0
4	1	1	0	1	2
5	4	0	0	1	5
6	4	0	0	0	1
7	2	0	0	2	0
8	3	1	0	2	2
9	2	0	0	1	1
10	1	0	0	0	5
Total	18	5	1	9	17
Rata-rata	10,00				

c. Perlakuan dosis 0 (P0)

Lapang Pandang	Ulangan				
	1	2	3	4	5
1	0	5	2	1	0
2	1	8	2	6	3
3	0	3	0	7	2
4	2	1	3	3	0
5	1	1	1	3	0
6	1	7	3	4	1
7	1	4	4	2	0
8	1	2	2	1	2
9	1	4	1	6	1
10	0	2	2	2	1
Total	8	37	20	35	10
Rata-rata	22,00				

d. Perlakuan dosis 1 (P1)

Lapang Pandang	Ulangan				
	1	2	3	4	5
1	0	1	2	2	0
2	0	0	3	1	0
3	1	0	4	2	2
4	3	0	4	3	2
5	1	1	0	4	1
6	0	0	1	3	2
7	2	1	4	2	7
8	1	1	0	2	1
9	2	1	0	2	5
10	2	0	6	2	1
Total	12	5	24	23	21
Rata-rata	17,00				

e. Perlakuan dosis 2 (P2)

Lapang Pandang	Ulangan				
	1	2	3	4	5
1	5	1	1	2	1
2	7	2	1	1	2
3	4	5	2	3	3
4	5	2	0	2	4
5	5	3	1	3	1
6	3	4	1	2	2
7	0	2	2	2	1
8	1	2	2	3	0
9	2	1	1	2	0
10	0	2	0	2	0
Total	32	24	11	22	14
Rata-rata	20,60				

5.2 Hasil Analisis Statistik Jumlah Megakaryosit di Limpa

a. Uji Normalitas dengan Kolmogorov Smirnov Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		25
Normal Parameters ^a	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.86993987
	Most Extreme Differences	
	Absolute	.132
	Positive	.124
	Negative	-.132
Kolmogorov-Smirnov Z		.662
Asymp. Sig. (2-tailed)		.774

a. Test distribution is Normal.

b. Uji Homogenitas Lavene

Test of Homogeneity of Variances

Megakaryosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.652	4	20	.063

c. Mean \pm Standar Deviation**Descriptives**

Megakarvosit

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Normal	5	15.00	4.796	2.145	9.05	20.95	8	20
K+	5	10.00	7.416	3.317	.79	19.21	1	18
P0	5	22.00	13.583	6.075	5.13	38.87	8	37
P1	5	17.00	8.216	3.674	6.80	27.20	5	24
P2	5	20.60	8.355	3.736	10.23	30.97	11	32
Total	25	16.92	9.251	1.850	13.10	20.74	1	37

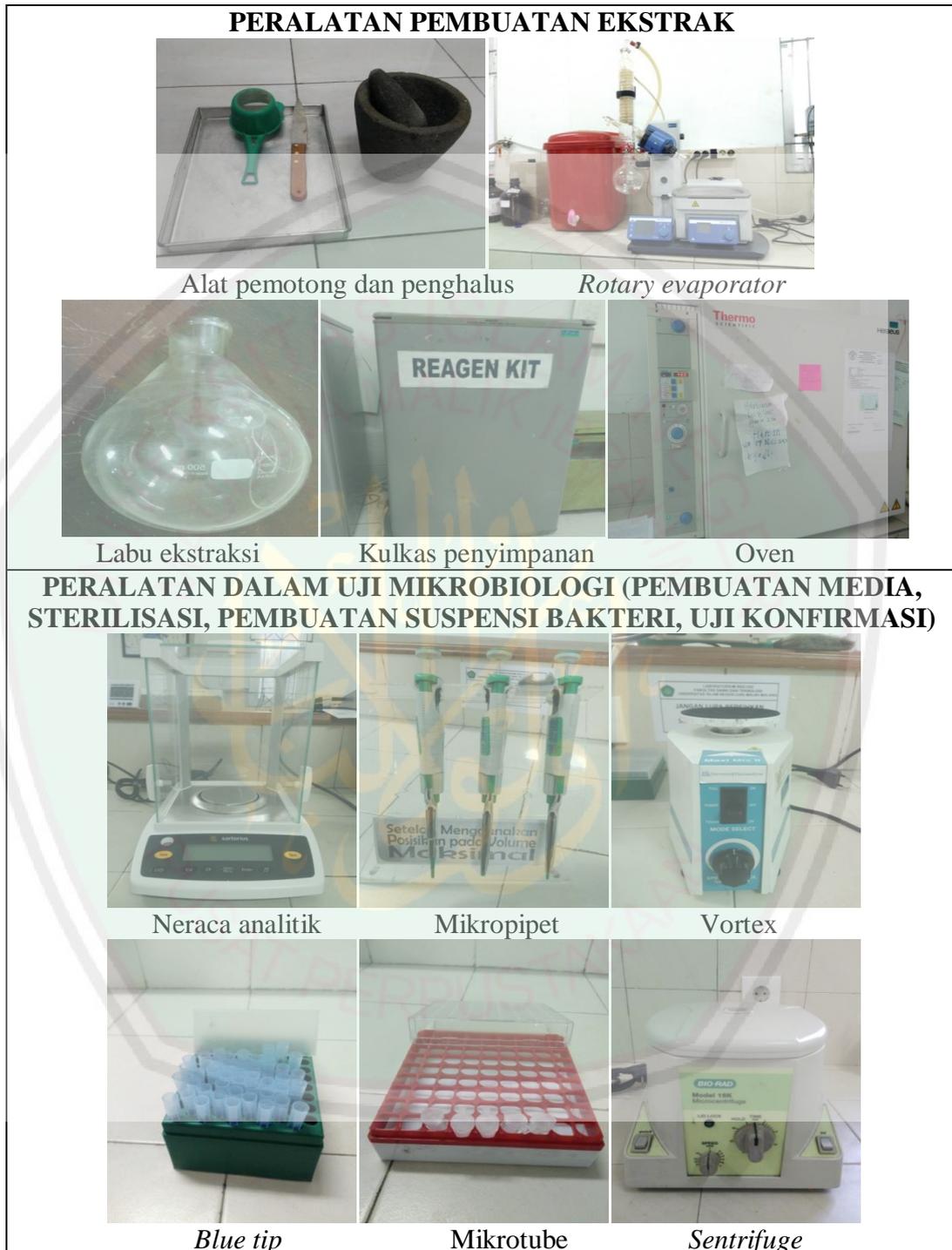
d. One Way Anova

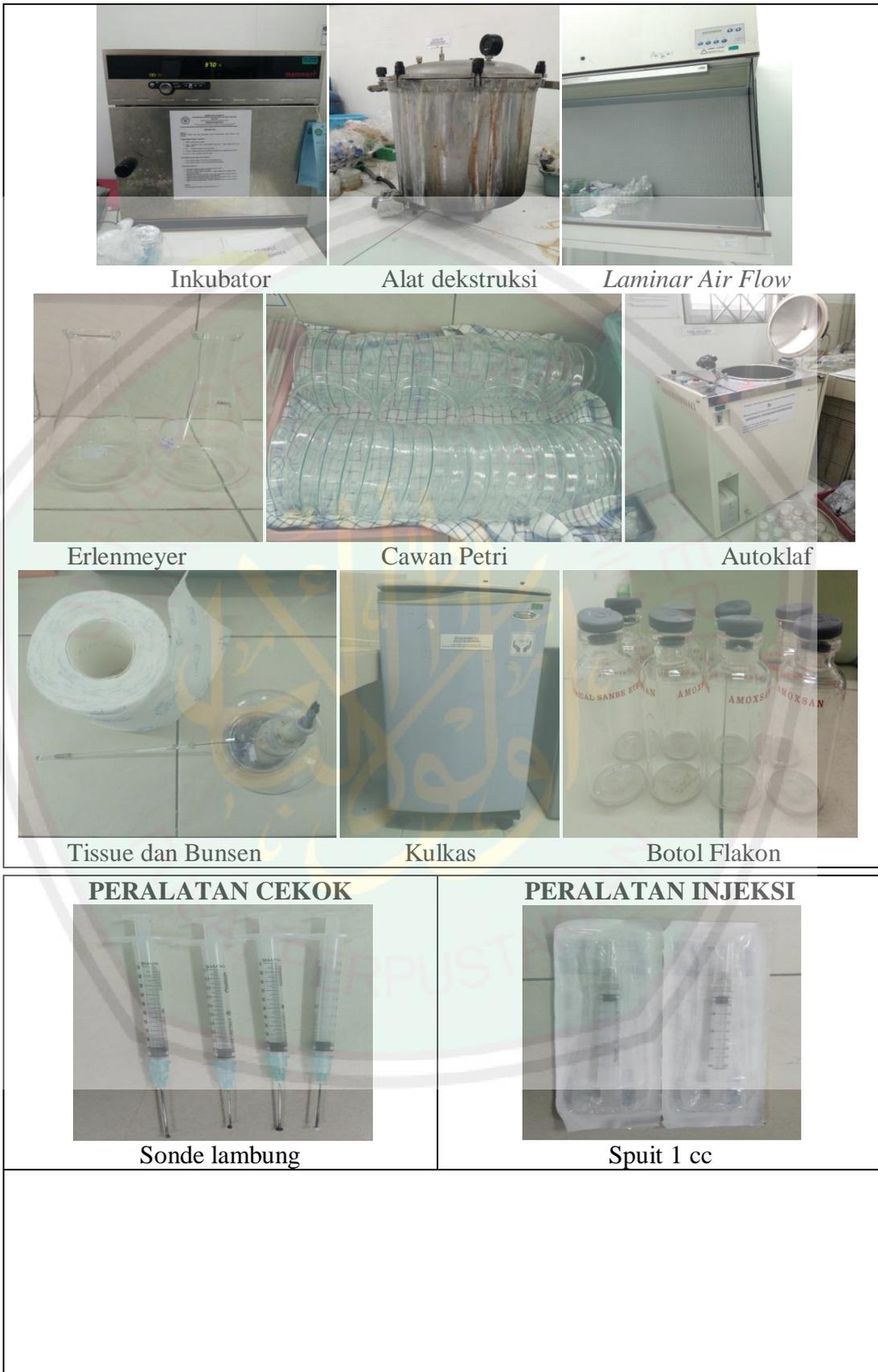
ANOVA

Megakaryosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	454.640	4	113.660	1.421	.263
Within Groups	1599.200	20	79.960		
Total	2053.840	24			

Lampiran 6. Dokumentasi Alat Penelitian





PERALATAN PEMBUATAN PREPARAT



Pot Film



Mikrotom



Tissue-Tek "DRS"



Tissue-Tek "TEC"



Kaca Objek

PERALATAN BEDAH



Alat diseksi

PERALATAN PENGAMATAN PREPARAT



Mikroskop dan Komputer

PERALATAN AKLIMATISASI



Pakan pellet, Serbuk, Kandang, dan Air Minum

Lampiran 7. Dokumentasi Bahan Penelitian



BAHAN UNTUK TERAPI



Antibiotik Helixim



Ekstrak Etanol Biji Alpukat

BAHAN UNTUK PEMBUATAN PREPARAT



Formalin



Eosin



Xylol

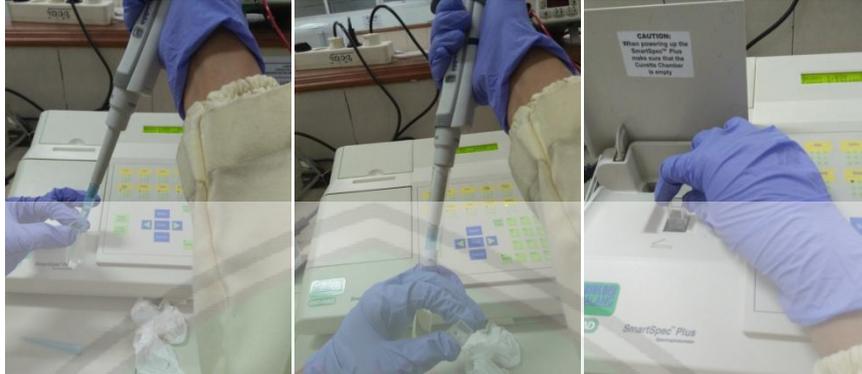


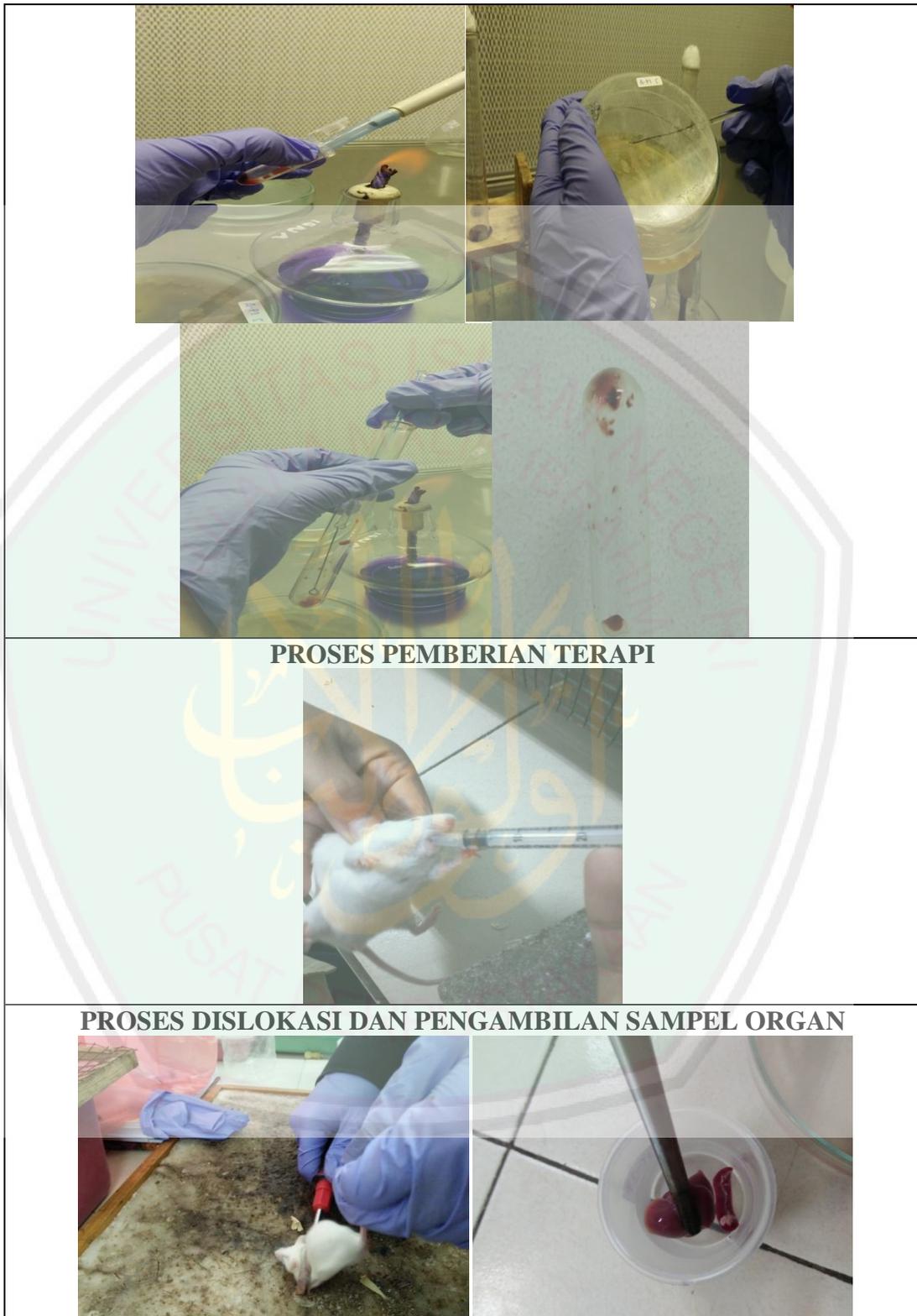
Hematoxylin



Alkohol

Lampiran 8. Dokumentasi Proses Penelitian

PROSES PENGECEKAN JUMLAH KOLONI BAKTERI**PROSES INJEKSI SECARA INTRAPERITONEAL****PROSES KONFIRMASI PERHITUNGAN KOLONI DAN UJI KOAGULASE**



PROSES PEMBERIAN TERAPI

PROSES DISLOKASI DAN PENGAMBILAN SAMPEL ORGAN



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Vicky Felistiani
NIM : 13620068
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2017/2018
Pembimbing : Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Limpa pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	07-09-2016	Konsultasi konsep penelitian	1.
2.	27-01-2017	Acc judul penelitian	2.
3.	30-01-2017	Konsultasi BAB I	3.
4.	07-02-2017	Konsultasi BAB I dan BAB III	4.
5.	20-02-2017	Revisi BAB I dan BAB III	5.
6.	01-03-2017	Konsultasi BAB II	6.
7.	08-03-2017	Revisi BAB II	7.
8.	17-03-2017	Revisi BAB I, BAB II, dan BAB III	8.
9.	21-03-2017	Acc BAB I, BAB II, dan BAB III	9.
10.	10-08-2017	Konsultasi Analisis Data	10.
11.	15-08-2017	Revisi Analisis Data	11.
12.	09-10-2017	Konsultasi BAB IV	12.
13.	13-10-2017	Revisi BAB IV	13.
14.	17-10-2017	Revisi BAB IV	14.
15.	20-10-2017	Revisi BAB IV	15.
16.	24-10-2017	Revisi BAB IV dan BAB V	16.
17.	29-10-2017	Konsultasi abstrak	17.
18.	03-11-2017	ACC Skripsi	18.

Pembimbing Skripsi,

Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

Malang, 23 November 2017
Ketua Jurusan



Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Vicity Felistiani
NIM : 13620068
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil TA. 2017/2018
Pembimbing : Umayyatus Syarifah, M.A
JudulSkripsi : Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Limpa pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	16-10-2017	Konsultasi BAB I, II, dan IV	1.
2.	18-10-2017	Revisi BAB I, II, dan IV	2.
3.	23-10-2017	Revisi BAB II dan IV	3.
4.	25-10-2017	Revisi BAB IV	4.
5.	01-11-2017	ACC BAB I, II, dan IV	5.
6.	20-11-2017	Revisi Abstrak Bahasa Arab dan Daftar Pustaka	6.
7.	11-11-2017	ACC Abstrak Bahasa Arab dan Daftar Pustaka	7.

Pembimbing Skripsi,

Umayyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005

Malang, 23 November 2017
Ketua Jurusan



Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019