

## EFEK EKSTRAK BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill) SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTEROL DARAH MENCIT (*Mus musculus*)

### Effect of Avocado (*Persea americana* Mill) Seeds' Extract as Antihypercholesterol Mice's (*Mus musculus*) Blood

\*Wardatul Jannah, Nurdin Rahman, dan Ratman

Pendidikan Kimia/FKIP – Universitas Tadulako, Palu – Indonesia 94118

Received 15 June 2017, Revised 14 July 2017, Accepted 15 August 2017

#### Abstract

Cholesterol is an important element in the body needed to regulate chemical processes in the body, but high amounts of cholesterol can lead to atherosclerosis which ultimately will have an impact on coronary heart disease. This study aims to knowing phytochemicals contained in an avocado (*persea americana mill*) seeds' extract and determine the concentration of the avocado (*persea americana mill*) seeds' extract can lower mice's blood (*mus musculus*) hypercholesterol levels in optimum. The animals tested were male mice which totaled 15 mice induced by propylthiouracil and high-fat feed. The mice were divided into 5 groups with different treatment. Treatment I, II, and III were given avocado seeds' extract with a concentration of 10%, 20% and 40% respectively, treatment IV was given simvastatin as positive control, and treatment V was given standard food and aquades as negative control. The data gained was analyzed through analysis of variance (ANOVA) statistical test which was followed by Duncan's stest. The research findings show that avocado seeds' extract is considered as positive to contain flavonoids, saponins, and tannins. The concentration of the avocado seeds' extract which lowers blood hypercholesterol levels in optimum way is 10% (b/v).

Keywords: Avocado Seeds, antihypercholesterol, Bioactive, mice

#### Pendahuluan

Kolesterol merupakan unsur penting dalam tubuh yang diperlukan untuk mengatur proses kimiawi di dalam tubuh, tetapi kolesterol dalam jumlah tinggi bisa menyebabkan terjadinya aterosklerosis yang akhirnya akan berdampak pada penyakit jantung koroner (Rahayu, 2005). Freeman & Junge (2005) mengatakan bahwa menurunkan kadar kolesterol darah adalah salah satu langkah perawatan kesehatan yang mencegah dari penyakit jantung. Penurunan kadar kolesterol dapat dilakukan dengan obat-obatan hipolipidemia. Namun, harga obat-obatan hipolipidemia yang mahal, menyebabkan tidak semua orang dapat menjangkaunya. Pencarian terhadap obat-obatan hipolipidemia terutama yang berasal dari alam sangat giat dilakukan. Obat-obatan dari alam selain murah dan mudah didapat, juga memiliki efek samping yang kecil sehingga relatif aman jika dibandingkan obat-obatan sintesis.

Kolesterol darah terikat oleh suatu lipoprotein, yang terdiri dari kilomikron yaitu VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), LDL (*Low Density Lipoprotein*) dan HDL (*high Density Lipoprotein*). Kolesterol sebenarnya sangat diperlukan dalam berbagai proses metabolisme tubuh, misalnya sebagai bahan pembentuk dinding sel, pembuatan asam empedu untuk mengemulsikan lemak. Selain itu juga dibutuhkan untuk membuat vitamin D juga berperan sebagai bahan untuk membuat hormon-hormon seks

dan kortikosteroid. Kolesterol terbentuk di dalam hati dan usus halus, akan tetapi beredar di dalam darah (Dachryanus, dkk., 2007).

Setiap lipoprotein memiliki fungsi masing-masing, seperti kilomikron berfungsi untuk mengangkut kolesterol yang baru saja dibentuk dalam usus halus, VLDL berfungsi untuk membawa kolesterol yang telah dikeluarkan oleh hati ke jaringan otot untuk disimpan sebagai cadangan energi, LDL untuk mengangkut kolesterol didalam plasma darah dan keperluan pertukaran zat. Hanya saja dalam menjalankan fungsinya partikel LDL ini mudah sekali menempel dalam dinding pembuluh darah koroner, sehingga dapat menimbulkan plak aterosklerosis (timbunan lemak pada dinding pembuluh darah). HDL adalah merupakan kolesterol baik, karena fungsinya untuk menangkap kolesterol dalam keadaan bebas untuk diangkut kembali ke dalam hati (Nurwahyunani, 2006).

Pemanfaatan bahan alam yaitu tanaman herbal yang tidak hanya menyembuhkan penyakit, tetapi juga dapat memperbaiki jaringan tubuh yang rusak (Winarto, 2003). Obat herbal relatif tidak memiliki efek samping, harganya juga relatif murah dan mudah dibudidayakan sendiri.

Daun dan buah alpukat mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, polifenol dan quersetin sedangkan biji buah alpukat diketahui mengandung flavonoid, tanin, kuinon, polifenol, triterpenoid, saponin, monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Monica, 2006). Diantara zat-zat tersebut flavonoid merupakan zat yang paling efektif menurunkan kadar kolesterol LDL dalam darah karena flavonoid bekerja meningkatkan kolesterol HDL (Nurwahyunani, 2006).

\*Correspondence

Wardatul Jannah

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako

e-mail: wardatuljannah086@gmail.com

Published by Universitas Tadulako 2017

Flavonoid mampu mengurangi sintesis kolesterol dengan cara menghambat aktivitas enzim *acyl-CoA cholesterol acyltransferase* (ACAT) pada sel HepG2 yang berperan dalam penurunan esterifikasi kolesterol pada usus dan hati, serta menghambat aktivitas enzim 3-hidroksi-3-metil-glutaril-CoA yang menyebabkan penghambatan sintesis kolesterol. Saponin dapat berikatan dengan asam empedu dan kolesterol (dari makanan) membentuk misel yang juga tidak dapat diserap oleh usus. Sedangkan tannin di dalam tubuh akan berikatan dengan protein tubuh dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak menjadi terhambat. Hal ini menyebabkan pembentukan kolesterol di dalam hati terhambat dan penyerapan kolesterol di dalam usus juga demikian, sehingga menyebabkan penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida di dalam darah (Arief, dkk., 2012).

Pengobatan kolesterol total yang tinggi adalah dengan terapi farmakologik, diantaranya adalah golongan statin, asam nikotinic, asam fibrat dan lain-lain. Penggunaan terapi farmakologik yang berkepanjangan dapat menimbulkan efek samping, sebagai contoh penggunaan statin yang berkepanjangan dapat menyebabkan miopati yang mengakibatkan terbatasnya mobilitas, toksisitas hepar yang ditandai dengan meningkatnya kadar enzim transaminase hepatik (Rumanti, 2011).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok fitokimia yang memiliki struktur yang sama, yaitu polifenol. Banyak penelitian yang menyatakan bahwa flavonoid ini dapat menurunkan faktor risiko penyakit kardiovaskular karena berperan dalam metabolisme lipid. Pengaruh flavonoid terhadap profil lipid darah masih belum diketahui secara pasti bahkan hasil penelitian berbagai sumber flavonoid terhadap profil lipid darah pun masih banyak yang bertentangan. Mekanisme flavonoid menurunkan kadar kolesterol total diantaranya adalah menurunkan aktivitas HMG-KoA reduktase, menurunkan aktivitas enzim *acyl-CoA cholesterol acyltransferase* (ACAT), dan menurunkan absorpsi kolesterol di saluran pencernaan (Rumanti, 2011).

Obat-obatan untuk menurunkan penyakit kolesterol yang sering digunakan masyarakat adalah obat sintesis yang umumnya akan menimbulkan efek samping yang sangat serius bagi tubuh terutama terhadap ginjal. Penggunaan obat tradisional merupakan salah satu program pelayanan kesehatan dasar dan juga merupakan salah satu alternatif untuk dapat memenuhi kebutuhan dasar pengobatan, khususnya tanaman yang berkhasiat obat dalam rangka pelayanan kesehatan masyarakat (Inawati, dkk., 2006).

Beberapa penelitian yang memanfaatkan sebagian tumbuhan untuk penurunan kolesterol darah mencit telah dilakukan, diantaranya ekstrak *Eugenia polyantha* (Riansari, 2008) dan air herba seledri (*Apium graveolens* L.) (Helmi, dkk., 2013). Sementara Zuhrawati (2014), meneliti tentang pengaruh pemberian jus nanas (*Ananas comosus*) terhadap kadar kolesterol total darah kelinci (*Oryzotolagus cuniculus*). Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian

jus nanas (*Ananas comosus*) selama sepuluh hari berturut-turut dapat menurunkan kadar kolesterol total darah kelinci hiperkolesterolemia.

Fokus makalah ini adalah mendeskripsikan zat fitokimia yang terdapat pada ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill) dan menentukan konsentrasi ekstrak biji alpukat (*Persea Americana* Mill) yang dapat menurunkan hiperkolesterol darah mencit (*Mus musculus*) secara optimum.

## Metode

Alat yang digunakan adalah Nesco multichcek, suntik sonde, gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, Erlenmeyer, kandang hewan uji, timbangan hewan, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, neraca analitik, spatula, blender, lap halus, gunting, kertas label, pipet tetes, kertas saring, corong gelas, pisau/cutter, masker, sarung tangan, ayakan, tissue, lumpang dan alu serta wadah.

Bahan yang digunakan adalah HCl pekat (*Merck*),  $\text{FeCl}_3$  1% (*Merck K GaA*), Alkohol 70% (*Merck*), aquades, logam Mg, biji alpukat, hewan uji mencit jantan, PTU, simvastatin dan Na-CMC.

## Preparasi sampel

Biji alpukat yang sudah matang, kemudian biji alpukat dibersihkan dari kulit arinya. Biji alpukat ditiriskan, dipotong-potong dan dikeringkan dandiangan-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung sampai mengering. Sampel diblender dan diayak menjadi tepung.

## Pembuatan ekstrak biji alpukat pada pemberian hewan uji

Ekstrak biji alpukat dibuat dengan menggunakan metode infusa. Pembuatan ekstrak 10%, terlebih dahulu sampel biji alpukat ditimbang sebanyak 10 gram dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 200 mL. Aquades dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi sampel biji alpukat hingga aquades mencapai tandabatas (100 mL). Erlenmeyer yang berisi sampel biji alpukat dan aquades dimasukkan kedalam gelas kimia 1000 mL yang berisi air dan dipanaskan hingga mencapai suhu 90°C pada sampel selama 15 menit. Setelah pemanasan, kemudian campuran disaring dalam keadaan panas dan jika volume kurang dari 100 mL, maka ditambahkan air hangat melalui residu hasil saringan hingga volume mencapai 100 mL. Cara yang sama dilakukan pada pembuatan ekstrak biji alpukat 20% dan 40% dibuat dengan menggunakan 20 gram dan 40 gram sampel biji alpukat.

## Uji senyawa metabolit sekunder ekstrak biji alpukat

0,5 gram sampel ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan kemudian disaring. Filtrat ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl. Apabila menghasilkan warna kuning jingga maka hasilnya positif.

0,5 gram sampel ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan kemudian disaring. Filtrat ditambahkan dengan 1 mL  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika positif tanin jika terbentuk warna hijau kehitaman.

0,5 gram sampel ditambahkan dengan 5 mL etanol, dipanaskan pada suhu 90 °C kemudian didinginkan dan disaring. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok sampai terbentuk buih selama 10 menit.

#### **Pembuatan propiltiourasil 0,01%**

Keadaan hiperkolesterolemia pada mencit dilakukan dengan memberikan PTU melalui air minumnya dengan konsentrasi PTU sebesar 0,01% (Nurwahyunani, 2006).

#### **Pembuatan koloid Na-CMC 1% b/v**

Koloid Na-CMC 1% dibuat dengan melarutkan 1 gram Na-CMC sedikit demi sedikit kedalam 50 mL air suling panas sambil diaduk hingga terbentuk koloid. Volume dicukupkan hingga 100 mL dengan air suling (Salam, 2011).

#### **Pembuatan simvastatin**

1 tablet simvastatin 5 mg digerus dengan lumpang setelah itu ditambahkan dengan koloid Na-CMC 1% b/v sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen. Gerusan tablet kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan cukupkan hingga volumenya 100 mL dengan koloid Na-CMC 1% (Salam, 2011).

#### **Pembuatan makanan diet lemak tinggi**

Makanan diet lemak tinggi terdiri dari campuran kuning telur, makanan standar (jagung) dan minyak goreng. Cara pembuatannya yaitu timbang makanan standar (jagung) sesuai dengan yang dibutuhkan kemudian campurkan dengan minyak dan kuning telur (Dachryanus, dkk., 2007).

#### **Pemilihan dan penyiapan hewan uji**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jantan berbadan sehat, berumur 2-3 bulan dengan berat badan sekitar antara 20 gram sampai 30 gram. Mencit (*Mus musculus*) yang digunakan sebanyak 15 ekor dan dibagi dalam 5 kelompok.

#### **Perlakuan terhadap hewan uji**

Mencit diadaptasi selama 1 minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Selama adaptasi seluruh mencit diberi pakan (jagung) sebanyak 20 gram/hari dan air minum secara *ad libitum*, kemudian berat badan ditimbang dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Sebelum perlakuan pada hewan uji, mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam, kemudian dilakukan pengukuran kadar kolestrol awal pada mencit. Semua hewan uji diinduksi dengan mengonsumsi propiltiourasil, makanan diet lemak tinggi terdiri dari campuran kuning telur dan makanan standar selama 2 minggu. Selanjutnya dilakukan kembali pengukuran kadar kolestrol. Setelah itu, diberi perlakuan sebagai berikut:

P1: Perlakuan 1 (makanan diet lemak + PTU 0,01% + ekstrak biji alpukat 10% + Na-CMC 1%)

P2: Perlakuan 2 (makanan diet lemak + PTU 0,01% + ekstrak biji alpukat 20% + Na-CMC 1%)

P3: Perlakuan 3 (makanan diet lemak + PTU 0,01% + ekstrak biji alpukat 40% + Na-CMC 1%)

P4: Perlakuan 4 atau kontrol positif (makanan diet lemak + PTU 0,01% + Simvastatin + Na-CMC 1%)

P5: Perlakuan 5 atau kontrol negatif (makanan diet lemak + PTU 0,01% + Na-CMC 1%)

Setelah perlakuan selama 13 hari mencit diistirahatkan ke dalam kandangnya masing-masing (dipuasakan) kemudian pada hari 14 setelah perlakuan diukur kembali kadar kolestrolnya sebagai kadar kolestrol akhir.

#### **Penentuan kadar kolestrol darah**

Pengukuran kolestrol menggunakan Nesco multicheck. Darah diambil melalui ujung ekor hewan uji mencit (*Mus musculus*) dengan menyentuhkan setetes darah ke strip blood cholesterol. Reaksi dari wadah strip blood cholesterol ini otomatis menyerap darah melalui aksikapiler. Ketika wadah terisi penuh oleh darah, alat akan mulai mengukur kadar kolestrol. Hasil pengukuran dibaca selama 9 detik ketika darah masuk ke strip blood cholesterol dan dapat dibaca pada monitornya.

#### **Hasil dan Pembahasan**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat yang berasal dari Pasar Inpres, Palu. Sampel yang digunakan sebanyak 1 kg. Biji alpukat yang bersih dipotong-potong ± 1 cm dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Tujuannya untuk mengurangi kadar air dalam tanaman yang akan dianalisis sehingga mencegah terjadinya proses pembusukan ketika disimpan dalam waktu yang cukup lama. Biji alpukat kering, dibuat tepung dengan menggunakan blender dan diayak dan diperoleh tepung biji alpukat sebanyak 200 gram. Selanjutnya serbuk diekstraksi untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Proses ekstraksi menggunakan metode infusa, metode ini dipilih karena selain cara pengerjaannya sangat sederhana juga baik dalam menarik komponen aktif yang terkandung dalam ekstrak biji alpukat. Proses ekstraksi menggunakan beberapa pelarut yakni pelarut aquades dan etanol 70%.

#### **Uji senyawa metabolik sekunder ekstrak biji alpukat**

Biji alpukat dapat dijadikan sebagai obat penurunan hiperkolesterolemia darah dan dilakukan analisis kualitatif senyawa fitokimia pada ekstrak biji alpukat. Povey (1994) menyatakan bahwa antioksidan dapat berperan dalam penurunan kadar kolestrol. Antioksidan membantu memecah terjadinya proses oksidasi lemak yang apabila terjadi oksidasi lemak, maka kolestrol menjadi mudah melewati dinding arteri dan menyumbatnya. Pengujian metabolit sekunder yang diuji dalam ekstrak biji alpukat yaitu senyawa saponin, flavanoid dan tanin.

Biji Alpukat mengandung senyawa saponin diindikasikan dengan terbentuk buih. Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air, saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel, gugus

polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa (Setyowati, 2014). Hasil yang diperoleh yaitu positif lemah (+), hal ini disebabkan karena kurangnya kandungan rantai gula pada sampel tersebut. Fungsi dari saponin yaitu dapat berikatan dengan asam empedu dan kolesterol (dari makanan) membentuk misel yang juga tidak dapat diserap oleh usus (Arief, dkk., 2012).

Adanya flavonoid pada biji alpukat diketahui oleh ciri-ciri berwarna kuning jingga. Warna kuning ini terjadi karena terbentuk garam flavilum berwarna kuning jingga yang kuat. Mekanisme terbentuknya garam flavilum terjadi dengan adanya pereaksi logam magnesium dan HCl yang mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi jingga (Setyowati, 2014). Adanya flavonoid berperan sebagai antioksidan yang dapat menekan pelepasan radikal  $O_2$  yang reaktif sehingga menekan terjadinya kerusakan endotel dengan menghambat inisiasi atau propagasi dari reaksi rantai oksidasi dan sebagai anti inflamasi yang dapat menghambat reaksi inflamasi, sehingga mencegah makin banyaknya makrofag. Antioksidan juga mengurangi toksisitas LDL yang teroksidasi terhadap sel endotel dan juga mengurangi degradasi oksidatif akibat nitrit oksida (Zarrabal, dkk., 2005).

Biji alpukat mengandung senyawa tanin karena terbentuk warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan  $FeCl_3$  1% karena tannin akan bereaksi dengan ion  $Fe^{3+}$  membentuk senyawa kompleks (Setyowati, 2014). Hasil yang diperoleh yaitu positif sangat kuat (+++), hal ini disebabkan karena terdapat gugus fenol pada sampel biji alpukat. Tanin di dalam tubuh akan berikatan dengan protein tubuh dan akan melapisi dinding usus, sehingga penyerapan lemak terhambat. Hal ini menyebabkan pembentukan kolesterol di dalam hati terhambat dan penyerapan kolesterol di usus terhambat, sehingga menyebabkan penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida di dalam darah (Arief, dkk., 2012).

Pengujian metabolit sekunder untuk mengetahui senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak biji alpukat dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil uji metabolit sekunder ekstrak biji alpukat

Uji	Perlakuan	Pengamatan	Hasil
Saponin	Menimbang 0,5 gram sampel, menambahkan 5 mL etanol 70%, memanaskan diatas penangas air selama 15 menit, kemudian disaring, hasil ekstrak ditambahkan 2 tetes HCl kemudian dikocok.	Terbentuk Buih	Positif(+)
Flavonoid	Menimbang 0,5 gram sampel, menambahkan 5 mL etanol 70%, memanaskan diatas penangas air selama 15 menit, kemudian disaring, hasil ekstrak ditambahkan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl kemudian dikocok.	Terbentuk warna kuning jingga	Positif (++)
Tannin	Menimbang 0,5 gram sampel, menambahkan 5 mL etanol 70%, memanaskan diatas penangas air selama 15 menit, kemudian disaring, hasil ekstrak ditambahkan 1 mL $FeCl_3$ 1%.	Terbentuk warna hijau kehitaman	Positif (+++)

#### Uji kadar kolesterol darah

Nilai rerata kadar kolesterol darah awal mencit berkisar antara 132,6-134,0 mg/dL. Hasil rerata kolesterol darah setelah diinduksi dengan PTU

berkisar 200,3-230,3 mg/dL dan rerata kolesterol darah akhir berkisar 110-188,3 mg/dL. Kadar kolesterol darah mencit setelah perlakuan menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ( $p > 0,05$  atau nilai signifikan  $0,005 > 0,05$ ). Dengan demikian, semua kelompok perlakuan layak dibandingkan karena ada perbedaan yang signifikan. Penurunan hiperkolestrol darah pada mencit dilakukan perhitungan dengan selisih antara kadar kolestrol darah setelah diinduksi dengan kadar kolestrol darah setelah pemberian perlakuan. Selanjutnya dihitung reratanya seperti yang terlihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil rerata kolesterol darah mencit

Perlakuan	Kolestrol darah awal	Kolestrol darah setelah induksi	Kolestrol darah setelah perlakuan	Penurunan kolestrol darah
P1	134,0	226,3	118,3	108,0
P2	132,6	222,0	111,3	110,6
P3	133,6	230,3	115,0	115,3
P4	133,6	221,6	110,0	111,6
P5	133,3	200,3	188,3	12,0

Keterangan:

- P1: Perlakuan 1 (makanan diet lemak + PTU 0,01% + ekstrak biji alpukat 10% + Na-CMC 1%)  
 P2: Perlakuan 2 (makanan diet lemak + PTU 0,01% + ekstrak biji alpukat 20% + Na-CMC 1%)  
 P3: Perlakuan 3 (makanan diet lemak + PTU 0,01% + ekstrak biji alpukat 40% + Na-CMC 1%)  
 P4: Perlakuan 4 atau kontrol positif (makanan diet lemak + PTU 0,01% + Simvastatin + Na CMC 1%)  
 P5: Perlakuan 5 atau kontrol negatif (makanan diet lemak + PTU 0,01% + Na-CMC 1%)

Rerata penurunan kolestrol darah tersebut berbeda antara beberapa perlakuan. Penurunan kadar kolestrol tertinggi terdapat pada P3. Perubahan kadar kolestrol dalam darah tersebut mempunyai pengaruh positif bagi tubuh karena kadar kolestrol yang berlebihan akan menyebabkan aterosklerosis yang akan berdampak pada penyakit jantung koroner.

#### Efek konsentrasi ekstrak biji alpukat terhadap penurunan kadar kolestrol

Ekstrak biji alpukat diberikan pada hewan uji mencit (*Mus musculus*) jantan berbadan sehat, berumur 2-3 bulan dengan berat badan bervariasi antara 20-30 gram. Pemilihan mencit sebagai hewan uji karena ketersediaannya yang cukup tinggi dan cukup peka untuk mewakili manusia dalam penentuan kadar kolesterol darah. Mencit memiliki sistem metabolisme dan sistem pencernaan yang relatif sama dengan manusia (Salam, 2011). Mencit jantan digunakan pada penelitian ini karena mencit jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada mencit betina. Mencit jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisinya lebih stabil dibandingkan mencit betina (Mangkoewidjojo, 1988).

Mencit terlebih dahulu dipuaskan selama 18 jam sebelum diberi perlakuan. Tujuan dari perlakuan ini adalah untuk meminimalkan faktor makanan yang dapat mempengaruhi kadar kolesterol darah pada saat pengukuran. Setelah itu mencit tersebut diukur kolesterol darahnya dengan menggunakan Nesco Multicheck. Selanjutnya mencit diinduksi dengan menggunakan propiltiourasil melalui air minumnya dengan konsentrasi 0,01% artinya dalam 1 Liter air terlarut 100 mg PTU. Fungsi PTU yaitu meningkatkan kadar kolesterol dengan cara menghambat sintesis hormon tiroid. Makanan diet lemak tinggi terdiri dari campuran kuning telur dan makanan standar. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Gani, dkk., (2013) bahwa diet hiperkolesterol dapat meningkatkan kadar kolesterol total dan kadar LDL dalam darah. Efek ekstrak biji alpukat terhadap penurunan hiperkolesterol dapat berpengaruh pada setiap perlakuan I, II dan III karena mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin.

Analisis Anova, menunjukkan bahwa nilai  $F_{hitung}$  antar kelompok sebesar 7,229 lebih besar dibandingkan dengan  $F_{tabel}$  5% = 3,48. Hal ini menunjukkan terjadinya perbedaan yang signifikan antar kelompok. Selanjutnya, dilakukan uji *Duncan* sehingga dapat diperoleh hasil konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan kadar kolesterol darah pada mencit. Analisis Varians (ANOVA) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Analisis varians (ANOVA)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23803.733	4	5950.933	7.2	.005
Within Groups	8232.000	10	823.200	29	
Total	32035.733	14			

Perhitungan Analisis Varians (ANOVA) untuk penurunan kolesterol dengan taraf signifikan 5% di atas menunjukkan bahwa perlakuan pada ekstrak 10% (P1) berbeda signifikan dengan perlakuan kontrol negatif (P5) yaitu tanpa pemberian ekstrak, tetapi berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif (P4) yaitu pemberian obat simvastatin, yang berarti bahwa pemberian ekstrak 10% sudah memberikan efek yang sama dengan pemberian obat simvastatin. Pemberian ekstrak 20% (P2) memberikan efek yang sama dengan pemberian ekstrak 10%, dimana berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan berbeda tidak signifikan dengan pemberian obat simvastatin. Pemberian ekstrak 40% (P4) berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan berbeda signifikan dengan pemberian obat simvastatin, dimana pemberian ekstrak 40% memberikan efek yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian obat simvastatin.

Hasil perhitungan ANOVA ini dapat dilihat konsentrasi ekstrak yang paling efektif dalam menurunkan hiperkolesterol darah adalah perlakuan dengan pemberian konsentrasi ekstrak biji alpukat 10%. Hal ini disebabkan karena kandungan bioaktif

yang terdapat dalam biji alpukat, yaitu kandungan flavonoid dan tanin (Arjadi & Susaty, 2010).

Mekanisme penyembuhan penyakit hiperkolesterol oleh ekstrak tumbuhan tertentu berkaitan erat dengan kandungan flavonoid dalam tumbuhan tersebut. Middleton, dkk. (2000) mengatakan bahwa flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas. Karena flavonoid merupakan antioksidan yang kekuatannya 100 kali lebih efektif dibanding vitamin C dan 25 kali lebih tinggi dibanding vitamin E dan antioksidan dapat melawan kolesterol jahat (LDL), yang berpotensi menyumbat pembuluh darah. Antioksidan mencegah kerusakan sel-sel atau jaringan pembuluh darah. Pada saat yang bersamaan, antioksidan akan meningkatkan kolesterol baik (HDL), yang bermanfaat untuk mencegah penyakit jantung dan pembuluh darah.

Senyawa saponin yang tinggi akan semakin efektif dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Banyaknya saponin dalam saluran cerna akan meningkatkan penyerapan asam empedu oleh zat tersebut dan pengeluarannya melalui saluran buang. Beberapa hasil penelitian juga menunjukkan bahwa saponin dapat menurunkan kolesterol plasma dan hati pada hewan (tikus, ayam, kelinci) yang diberi makanan mengandung saponin (Matsuura, 2001).

Saponin dapat menghambat penyerapan kolesterol baik secara langsung maupun tidak langsung. Saponin secara langsung dapat menghambat penyerapan kolesterol dari usus atau tidak langsung menghambat penyerapan kembali asam empedu melalui sirkulasi enterohepatik. Efek utama saponin terhadap pencernaan lipid terlihat melalui efek asamempedu. Saponin membentuk misel dengan asam empedu, akibatnya kemampuan asam empedu untuk membentuk misel dengan asam lemak berkurang (Cheeke, 2001).

Mekanisme tanin sebagai anti hiperkolesterolemia adalah dengan cara menghambat adipogenesis dan menghambat absorpsi di intestinal. Selain itu, tanin juga merupakan antioksidan yang bertindak sebagai anti radikal bebas dan mengaktifkan enzim antioksidan (Kumari & Jain, 2012).

Selanjutnya, dilakukan uji *Duncan* sehingga dapat diperoleh hasil konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan kadar hiperkolesterol darah pada mencit, dimana konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan hiperkolesterol yaitu perlakuan P1 pada konsentrasi sedikit dan nilai yang diperoleh 108,00, konsentrasi tersebut dapat menurunkan kadar hiperkolesterol hampir sama dengan kontrol positif atau P4. Dimana perlakuan P1 diberikan sampel biji alpukat sebanyak 10% sedangkan P4 diberikan obat simvastati. Simvastatin bekerja dengan cara menghambat HMG-CoA reduktase secara kompetitif pada proses sintesis kolesterol di hati. Simvastatin akan menghambat HMG-CoA reduktase mengubah asetil-CoA menjadi asam mevalonat dan akan menginduksi suatu peningkatan reseptor LDL dengan afinitas tinggi. Efek tersebut meningkatkan kecepatan ekstraksi LDL oleh hati, sehingga mengurangi simpanan LDL plasma.

Penurunan kadar kolesterol darah mencit dengan menggunakan ekstrak biji alpukat (*Persea Americana* Mill) diduga memiliki kemiripan mekanisme dengan simvastatin karena keduanya mengandung elektron yang bisa didonorkan pada radikal bebas. Uji *Duncan* dapat dilihat pada Tabel 4 yaitu:

Tabel 4. Hasil uji *Duncan*

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P5	3	12.00	
P1	3		108.00
P2	3		110.67
P4	3		111.67
P3	3		115.33
Sig.		1.000	.776

Hasil Uji *Duncan* menunjukkan bahwa rerata penurunan hiperkolesterol darah mencit pada beberapa perlakuan yaitu P1, P2, P3 dan P4 dengan nilai berturut-turut 108.00, 110.67, 115.33 dan 111.67, sedangkan untuk P5 memiliki nilai 12.00. Nilai tersebut menjelaskan bahwa antara P1 (perlakuan dengan konsentrasi 10%), P2 (perlakuan dengan konsentrasi 20%), P3 (perlakuan dengan konsentrasi 40%) dan P4 (Perlakuan dengan pemberian obat simvastatin atau pembanding) terdapat perbedaan nyata terhadap kelompok P5 (tanpa pemberian ekstrak daun sirsak maupun obat simvastatin), hal ini terjadi karena terdapat efek yang ditimbulkan pada saat pemberian perlakuan baik untuk pemberian ekstrak biji alpukat maupun pemberian obat simvastatin. Nilai yang menunjukkan penurunan yang efektif yaitu pada kelompok P1 dengan konsentrasi sedikit karena dengan konsentrasi kecil sudah dapat menurunkan hiperkolesterol darah mencit, dan kelompok tersebut hampir sama dengan kelompok P4 (kontrol positif) atau sebagai pembanding.

### Kesimpulan

Zat fitokimia yang terdapat pada ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill) yaitu flavonoid, saponindantanin. Sedangkan konsentrasi ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill) yang dapat menurunkan hiperkolesterol darah mencit (*Mus musculus*) secara optimum adalah 10%.

### Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis berikan kepada laboran Laboratorium Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tadulako, Palu, Sulawesi Tengah dan teman-teman yang banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.

### Referensi

- Arief, I. M., Novriansyah, R., Budiarto, T. I., & Harmaji, B. M. (2012). Potensi bunga karamunting (*melastoma malabathricum* L.) terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus putih jantan hiperlipidemia yang di induksi propiltiourasil. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Banjarbaru*, 1(2), 118-126.
- Arjadi, F & Susatyo, P. (2010). Islet of langerhans regeneration in diabetic white rats (*rattus norvegicus*) after giving decocted pulp of mahkota dewa (*phaleria macrocarp* (scheff.) boerl). *Jurnal of Medical Faculty Jendral Soedirman University*. 2(2), 117-126.
- Cheeke, P. R. (2001). Actual and potential applications of yucca schidigera and quillaja saponaria saponins in human and animal nutrition. *Journal Recent Advances in Animal Nutrition in Australia*, 13(4), 115-126.
- Dachryanus, Katrin, D. O., Oktarina, R., Ernas, O., Suhatri, & Mukhtar, M. H. (2007). Uji efek *a-mangostin* terhadap kadar kolesterol, trigliserida, kolesterol hdl dan kadar kolesterol ldl darah mencit putih jantan serta penentuan lethal dosis 50. *Jurnal Universitas Andalas, Padang*, 12(2), 1-16.
- Freeman, M., & Junge, C. (2005). *Kolesterol rendah jantung sehat*. Jakarta: BIP.
- Gani, N., Momuat, L. I & Pitoi, M. M. (2013). Profil lipida plasma tikus wistar yang hiperkolesterolemia pada pemberian gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal Mipa Unsrat*, 2(1), 44-49.
- Helmi, A., Fahrefi, M., & Dharma, S. (2013). Pengaruh fraksi air herba seledri (*apium graveolens* L.) terhadap kadar kolesterol total mencit putih jantan hiperkolesterol. Padang: Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
- Inawati, Syamsuddin, & Winarno, H. (2006). Pengaruh ekstrak daun inai (*lawsonia inermis* linn.) terhadap penurunan kadar glukosa kolestrol total dan trigliserida darah mencit yang diinduksi aloksan. *Jurnal Kimia Indonesia*, 1(2), 71-77.
- Kumari, M., & Jain, S. (2012). Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences*, 1(12), 70-73.
- Mangkoewidjojo. (1988). *Pemeliharaan, pembiakan, dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Jakarta: UI Press.
- Matsuura, H. (2001). Saponins in garlic as modifiers of the risk of cardiovascular disease. *Journal Nutrition*, 131(3), 1000S-1005S.
- Middleton, E. J., Kandaswarni, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effect of plant flavonoids on mammalian cell: Implication, heart disease, and cancer. *Journal Pharmacological Reviews*, 52(5), 673-751.

- Monica, F. (2006). *Pengaruh pemberian air seduhan serbuk biji alpukat (persea americana mill) terhadap kadar glukosa darah tikus wistar yang diberi beban glukosa*. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Nurwahyunani. (2006). *Efek perasan daun sambung nyawa terhadap kadar kolesterol ldl dan kolesterol hdl darah tikus diabetik akibat induksi streptozotocin*. Skripsi. Semarang: Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.
- Povey, R. (1994). *How to keep your cholesterol in check-memantau kadar kolesterol anda*. Jakarta: Arcan.
- Rahayu, T. (2005). Kadar kolesterol darah tikus putih (*rattus norvegicus* l) setelah pemberian kombucha cairan per-oral. from <http://www.eprints.ums.ac.id/408/2005/thoms.html>
- Riansari, A. (2008). *Pengaruh pemberian ekstrak daun salam (eugenia polyantha) terhadap kadar kolesterol total serum tikus jantan galur wistar hiperlipidemia*. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Rumanti, T. R. (2011). *Efek propolis terhadap kadar kolesterol total pada tikus model tinggi lemak*. Bandung: Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha.
- Salam, A. A. (2011). *Uji efektifitas daun lere (ipomea pes-caprae (l) roth br.) sebagai alternative untuk menurunkan kadar glukosa darah kelinci (ocycologus) cuniculuus*. Skripsi. Palu: Universitas Tadulako, Tidak diterbitkan.
- Setyowati, W. A. E., Sri Retno Dwi Ariani, Ashadi, Bakti, M., & Cici, P. R. (2014). Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*durio zibethinus murr.*) varietas petruk. *Jurnal Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta*, 10(2), 271-280.
- Winarto, W. P. (2003). *Sambung nyawa*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Zarrabal, C. O., Waliszewski, M. S., Dermitz, B. M., Flores, O. Z., Jones, H. M. P., Hipolito, N. C., & Infazon, M. R. (2005). The consumption of hibiscus sabdariffa dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60(4), 153-159.
- Zuhrawati, A. N. (2014). Pengaruh pemberian jus nanas (*ananas comosus*) terhadap kadar kolesterol total darah kelinci (*oryotolagus cuniculus*) hiperkolesterolemia. *Jurnal Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh*, 8(1), 7-10.