PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK *Lactobacillus bulgaricus* DAN MINYAK BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP JUMLAH SEL LEUKOSIT DAN SEL T CD_4 PADA TIKUS PUTIH

MAKALAH HASIL

Oleh :

NEVTI SUNDARI

08061181722001

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2021

HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL

Judul	: Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus bulgaricus* Dan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Jumlah Sel Leukosit Dan Sel T Cd_4 Pada Tikus Putih
Nama Mahasiswa	: Nevti Sundari
Nim	: 08061181722001
Jurusan	: Farmasi

Telah dipertahankan dihadapan Pembimbing dan Pembahas pada Seminar Hasil di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 31 Agustus 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Indralaya, 16 September 2021

Pembimbing:

1. Dr. Miksusanti, M.Si. (……)
   NIP. 196807231994032003

2. Herlina. M.Kes., Apt. (……)
   NIP. 197107031998022001

Pembahas:

1. Indah Solihah, M. Sc., Apt. (……)
   NIP. 198803082019032015

2. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt. (……)
   NIP. 195810261987032002

3. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt. (……)
   NIP. 199308162019032025

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul : Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus bulgaricus* Dan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Jumlah Sel Leukosit Dan Sel T Cd_4 Pada Tikus Putih

Nama Mahasiswa : Nevti Sundari

Nim : 08061181722001

Jurusan : Farmasi

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Sidang ujian Skripsi di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya pada tanggal 30 September 2021 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai dengan saran yang diberikan.

Indralaya, 7 Oktober 2021

Ketua:

1. Dr. Miksusanti, M.Si. (……)
   NIP. 196807231994032003

Anggota:

2. Herlina. M.Kes., Apt. (……)
   NIP. 197107031998022001

1. Indah Solihah, M. Sc., Apt. (……)
   NIP. 198803082019032015

2. Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt. (……)
   NIP. 195810261987032002

3. Vitri Agustiarini, M.Farm., Apt. (……)
   NIP. 199308162019032025

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi FMIPA Unsri

Dr. rer.nat Mardiyanto, M.Si., Apt
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Nevti Sundari

NIM : 08061181722001

Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, Oktober 2021

Penulis,

Nevti Sundari

NIM. 08061181722001

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama Mahasiswa	: Nevti Sundari
NIM	: 08061181722001
Fakultas/Jurusan	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya	: Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya "hak bebas royalti non-eksklusif" *(non-exclusively royalty-free right)* atas karya ilmiah saya yang berjudul: "Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus bulgaricus* Dan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Jumlah Sel Leukosit Dan Sel T Cd_4 Pada Tikus Putih" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini, Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data *(database)*, merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, Oktober

Penulis,

Nevti Sundari

NIM. 08061181722001

HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO

بِسْمِ اللهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِيْمِ

(Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang)

Skripsi ini saya persembahkan kepada Bapak, Ibu, Adik Tercinta, Keluarga Besar, Dosen dan Pembimbing, Almamater, Sahabat serta Para Pejuang Ilmu Pengetahuan.

"*Allah does not impose upon any soul a duty but to the extent of its ability…***"**

(Qur'an 2: 286)

"*And (as for) those who strive hard for Us, We will most certainly guide them in Our ways; and Allah is most surely with the doers of good."*

(Qur'an 29:69)

Motto:

Nothing Is Impossible Beyond Determination.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta‟ala karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis akhirnya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul "Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus bulgaricus* Dan Minyak Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Jumlah Sel Leukosit Dan Sel T Cd_4 Pada Tikus Putih" Shalawat teriring salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad Shallallahu‘alaihi Wasallam. Penyusunan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Allah Subhanahu wa ta'ala, berkat kehendak dan izin-Nya lah sehingga penulis dan menyelesaikan skripsi ini.
2. Kedua orang tua penulis, Bapak Mudi Usman S.Pd dan Ibu Mutmainnah, Kedua Adik Saya Ulin Fahmil Aini dan Faisa Syakira, terimakasih atas seluruh cinta, kasih sayang, doa, semangat, dukungan, dan nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan masa perkuliahan dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Dr. Miksusanti, M.Si selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Herlina, M.kes., Apt selaku dosen pembimbing kedua atas seluruh ilmu, waktu, bimbingan, semangat, doa, saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
4. Teruntuk Ibu Herlina, M.kes., Apt selaku pembimbing akademik sekaligus pembimbing tugas akhir yang telah menjadi orang tua kedua penulis. Terimakasih banyak Ibu atas perhatian, motivasi, ilmu, dan waktu yang telah Ibu berikan. Bahagia dan sehat selalu, Ibu.

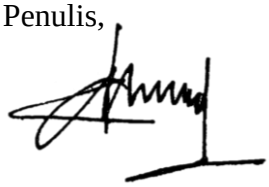
5. Ibu Indah Sholihah M.Sc., Apt, Dr. Hj. Budi Untari, M.Si., Apt, dan Vitri Agustiarini M.Si., Apt. selaku dosen pembahas atas masukan dan saran yang telah diberikan kepada penulis selama penyusunan skripsi.
6. Bapak Dr.rer.nat.Mardiyanto, M.Si., Apt. selaku kepala jurusan Farmasi atas sarana dan prasarana serta dukungan yang telah diberikan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini berjalan lancar.
7. Seluruh dosen Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, atas semua ilmu, saran dan nasihat yang telah diberikan kepada penulis sejak awal perkuliahan dan selama penyusunan skripsi ini.
8. Seluruh staf (Kak Erwin dan Kak Ria) dan analis laboratorium (Kak Tawan, Kak Isti, dan Kak Fitri) Jurusan Farmasi FMIPA yang telah memberikan banyak bantuan sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian dengan lancar.
9. Teman seperjuangan penelitian Sistem imun dan sekaligus keluarga saya di perantauan Ita Nuritasari atas waktu, bantuan, nasihat semangat, motivasi serta penjadi pendengar keluh kesah yang sangat baik hingga penyusunan skripsi ini selesai.
10. Teman seperjuangan penelitian Siti Nurhaliza dan Soeltan Mufti Azzuhry Ramadansyah atas semangat, waktu, bantuan, nasihat, dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.
11. Sahabat selama perkuliahan sekaligus keluarga seperantauan Ita Nuritasari, Angelina Gita Ciptananda, Yunikhe Anafisya, Ayu Septi Sundari, Mega Nirwana Sasha Kirtie, dan Ni Ketut Yufariani terimakasih telah selalu ada dan selalu menjadi pendengar yang baik.
12. Para squad Kost Pegagan, Ita Nuritasari dan Mutiara Fatmalillah, terimakasih atas segala bantuan, semangat dan motivasi yang telah diberikan.

13. Sahabat terbaik Pemi Wulandari dan Nengsi Kemala Sari yang selalu ada dan mendengarkan keluh kesah selama kuliah. Terimakasih atas doa dan dukungan yang telah kalian berikan kepada penulis.
14. Kakak asuh penulis Muetia Reni atas segala bantuan selama perkuliahan penulis.
15. Terimakasih kepada Himpunan Keluarga Mahasiswa Farmasi (HKMF) dan ISMAFARSI Sumatera 2 periode 2018-2020 sebagai organisasi yang telah menjadi tempat belajar, tempat untuk menambah pengalaman dan pengetahuan, serta menjadi keluarga baru selama perkuliahan.
16. Teman-teman seperjuangan Farmasi Unsri 2017, Terkhusus Kelas 17A, terutama Prantara Ardi Prasetyo, Gladys Debora dan Nurkholik terima kasih atas bantuan dan kebaikan kalian selama perkuliahan serta canda tawa yang sempat terukir dalam perjalanan kehidupan di kampus. Sukses untuk kita semua.
17. Kakak-kakak Farmasi 2015 dan 2016 yang telah memberikan arahan dan dukungan selama masa perkuliahan dan penelitian. Adik-adik Farmasi 2018, 2019, dan 2020 yang juga mendo'akan dan membantu penulis.
18. Semua pihak yang telah memberikan bantuan berupa dukungan dan semangat baik langsung maupun tidak langsung yang namanya tidak dapat disebutkan satu persatu hingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan penulisan skripsi ini dengan baik.

Penulis sangat bersyukur dan berterima kasih banyak atas segala kebaikan, bantuan, dukungan dan motivasi yang diberikan dari semua pihak yang telah membantu selama penelitian. Semoga Allah Subhanahu wa ta'ala memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan. Penulis sangat berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk perbaikan selanjutnya. Hanya kepada Allah SWT penulis menyerahkan segalanya, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan seluruh pembaca.

Indralaya, Oktober 2021

Penulis,



Nevti Sundari

NIM. 08061181722001

THE EFFECT ADMINISTRATION OF PROBIOTIC *Lactobacillus bulgaricus* AND AVOCADO SEED OIL (*Persea americana* Mill.) AGAINST THE NUMBER OF LEUKOCYTE CELL AND CD_4 T CELL ON WHITE RATS

Nevti Sundari
08061181722001

ABSTRACT

Lactobacillus bulgaricus is probiotic bacteria that are widely used for the manufacture of functional foods. Avocado seed oil is known to have many benefits due to its fatty acid content. The combination of Lactobacillus bulgaricus bacteria with avocado seed oil is done to see its ability to improve the immune system. The components of avocado seed oil were analyzed using GC-MS. The parameters of the immune system observed are the total number of leukocyte cells, differential leukocyte cells and CD_4 T cells. The total number of leukocyte and differential cells of leukocyte cells were observed using hematology a*nalyze*r, while CD_4 T cells were observed using Pima analyzer. The test animals in the form of male white rats wistar strains are grouped into 7 treatment groups. The results of the GC-MS analysis showed that the content of palmitic acid was 8,66% and oleic acid was 80,16%. Analysis of one way ANOVA test with post hoc test parameters followed by Tukey test showed that at the dose of Probiotics 1 mL/Kg BB with avocado seed oil 1 mL/Kg BB there was a significant increase in the total number of leukocyte cells, neutrophils, monocytes, lymphocytes, and CD_4 T cells ($p<0,05$) with a value of respectively $17,5\pm3,11.10^3$ Cells/µL, $4,11\pm1,02.10^3$ Cells/µL, $1,89\pm0,41.10^3$ Cells/µL; $11,87\pm2,09.10^3$ Cells/µL, and $6,67\pm3.06$ Cells/µL. The higher the dosing of *Lactobacillus bulgaricus* and avocado seed oil, then make higher the increase in the total number of leukocyte cells, leukocyte cell differentials and CD_4 T cells.

Keywords: *Lactobacillus Bulgaricus,* Avocado Seed Oil, Leukocyte Cells, CD_4 T Cells.

PENGARUH PEMBERIAN PROBIOTIK *Lactobacillus bulgaricus* DAN MINYAK BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP JUMLAH SEL LEUKOSIT DAN SEL T CD_4 PADA TIKUS PUTIH

Nevti Sundari
08061181722001

ABSTRAK

Lactobacillus bulgaricus termasuk bakteri probiotik yang banyak dimanfaatkan untuk pembuatan pangan fungsional. Minyak biji alpukat diketahui memiliki banyak manfaat karena kandungan asam lemaknya. Kombinasi Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat dilakukan untuk melihat kemampuannya dalam meningkatkan sistem imun. Komponen minyak biji alpukat dianalisis dengan menggunakan GC-MS. Parameter sistem imun yang diamati yaitu jumlah total sel leukosit, diferensial sel leukosit dan sel T CD_4. Jumlah total sel leukosit dan diferensial sel leukosit diamati dengan menggunakan Hematologi a*nalyze*r, sedangkan sel T CD_4 diamati menggunakan Pima *analyzer*. Hewan uji berupa tikus putih jantan galur wistar dikelompokkan menjadi 7 kelompok perlakuan. Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa kandungan asam palmitat sebesar 8,66% dan asam oleat 80,16%. Analisis uji *One Way* ANOVA dengan parameter uji *post hoc* dilanjutkan dengan uji Tukey menunjukan bahwa pada dosis Probiotik 1 mL/Kg BB dengan Minyak biji alpukat 1 mL/Kg BB terdapat peningkatan yang signifikan pada jumlah total sel leukosit, neutrofil, monosit, limfosit, dan T CD4 ($p<0,05$) dengan nilai masing- masing sebesar $17,5\pm3,11.10^3$ Sel/µL; $4,11\pm1,02.10^3$ Sel/µL; $1,89\pm0,41.10^3$ Sel/µL; $11,87\pm2,09.10^3$ Sel/µL; dan $6,67\pm3,06$ Sel/µL . Semakin tinggi dosis pemberian *Lactobacillus bulgaricus* dan minyak biji alpukat maka akan semakin tinggi peningkatan jumlah total sel leukosit, diferensial sel leukosit dan sel T CD_4.

Kata kunci: *Lactobacillus Bulgaricus*, Minyak Biji Alpukat, Sel Leukosit, Sel T CD_4.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PERSETUJUAN MAKALAH SEMINAR HASIL ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN MAKALAH ILMIAH iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO vi
KATA PENGANTAR vii
ABSTRACT xi
ABSTRAK xii
DAFTAR ISI xiii
DAFTAR GAMBAR xvii
DAFTAR TABEL xix
DAFTAR LAMPIRAN xx
DAFTAR SINGKATAN xxii
DAFTAR ISTILAH xxiii
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.4 Manfaat Penelitian 6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 7
2.1 Uraian Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill) 7
2.2 Khasiat dan Kegunaan Alpukat 8
2.3 Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologis Alpukat 9
2.4 Probiotik 12
2.4.1 Pengertian Probiotik 12
2.4.2 Mekanisme Kerja Probiotik 13
2.5 Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* 16
2.6 Sel Imun 18
2.6.1 Pengertian Sistem Imun 18
2.6.2 Fungsi Sistem Imun 19
2.6.3 Jenis- Jenis Sistem Pertahan Tubuh 19

2.6.3.1Pertahanan Tubuh Non Spesifik 19
2.6.3.2Pertahanan Tubuh Spesifik 22
2.7 Jenis Sel Leukosit dan sel T CD_4 23
2.8 Imunostimulan..... 26
2.9 Metode Uji Sel Sel T CD_4..... 27
2.10 Metode Uji Total Leukosit, Monosit, Limfosit, dan Neutrofil 28
2.11 Analisis Komponen Kimia Minyak Biji alpukat dengan Menggunakan GC-Ms..... 29
BAB III METODE PENELITIAN..... 31
3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian 31
3.2 Alat dan Bahan..... 31
3.2.1 Alat-alat Penelitian..... 31
3.2.2 Bahan-bahan Penelitian..... 31
3.2.3 Hewan Uji dan Bakteri Probiotik..... 32
3.3 Prosedur Kerja..... 32
3.3.1 Karakteristik Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus bulgaricus*) 32
3.3.1.1 Uji Katalase..... 32
3.3.1.2 Pewarnaan Gram 33
3.3.2 Pembuatan Larutan McFarland 0,5 33
3.3.3 Sterilisasi Alat daan Bahan Penelitian 34
3.3.4 Peremajaan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus bulgaricus*) 34
3.3.5 Preparasi Bakteri Probiotik dan pembuatan Suspensi Bakteri Uji..... 34
3.3.6 Pengukuran Jumlah bakteri menggunakan Spektrofotometer..... 35
3.3.7 Karakteristik Sifat Fisika dan Kimia Minyak Biji

Alpukat 35
3.3.7.1 Pemeriksaan Organoleptis 35
3.3.7.2 Pemeriksaan Bobot Jenis 34
3.3.7.3 Pemeriksaan Viskositas 36
3.3.7.4 Penetapan Indeks Bias 37
3.3.8 Analisis Komponen Minyak Biji Biji Alpukat Dengan Kromatografi Gas- Spektrometer Massa (GC-MS) 37
3.3.9 Preparasi Sampel Minyak Biji Alpukat 38
3.3.10 Penentuan pH 38
3.3.10.1 Penentuan pH Suspensi Bakteri *Lactobacillus Bulgaricus* 38
3.3.10.2 Penentuan pH Minyak Biji Alpukat 38
3.3.10.3 Penentuan pH Kombinasi Probiotik dan Minyak Biji Alpukat 39
3.3.11 Pengkondisian dan Rancangan Percobaan Hewan Uji 39
3.3.12 Perlakuan dan Pemberian Suspensi Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan Minyak Biji Alpukat 40
3.3.13 Evaluasi Jumlah Total Leukosit 42
3.3.14 Persentase Monosit, Limfosit, dan Neutrofil 41
3.3.15 Evaluasi Jumlah Sel T CD_4 42
3.3.16 Analisis Data 43
BAB IV PEMBAHASAN 44
4.1 Preparasi sampel bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan Minyak biji Alpukat 44
4.2 Karakteristik Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus bulgaricus*) 47
4.2.1 Uji Katalase 47
4.2.2 Pewarnaan Gram 48
4.3 Karakteristik Sifat Fisika dan Kimia Minyak Biji Alpukat 50

4.3.1 Pemeriksaan Organoleptis 50
4.3.2 Pemeriksaan Bobot Jenis 51
4.3.4 Penetapan Indeks Bias 52
4.3.3 Pemeriksaan Viskositas 52
4.4 Analisis Komponen Minyak Biji Biji Alpukat dengan Kromatografi Gas- Spektrometer Massa (GC-MS) 53
4.5 Pengukuran Larutan McFarland 0,5 dan Jumlah Bakteri Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS 63
4.6 Penentuan pH 66
4.7 Perlakuan dan Pemberian Sediaan Uji 67
4.8 Pemeriksaan Parameter Imunitas Tubuh Tikus 72
4.8.1 Evaluasi Jumlah Total sel Leukosit 74
4.8.2 Evaluasi Persentase Limfosit, Monosit dan Neutrofil 78
4.8.3 Evaluasi Jumlah Total sel T CD_4 89
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 94
5.1 Kesimpulan 94
5.2 Saran 95
DAFTAR PUSTAKA 96
LAMPIRAN 104

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. (a) Dagimg Buah Alpukat dan (b) Biji Alpukat 8
Gambar 2. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* 16
Gambar 3, Fase Pertumbuhan Bakteri 47
Gambar 4. Hasil Kromatogram Minyak Biji Alpukat..... 55
Gambar 5. Spektrum Puncak 2 Minyak Biji Alpukat 58
Gambar 6 . Pola Fragmentasi 1 Asam Palmitat Minyak Biji Alpukat 59
Gambar 7 . Pola Fragmentasi 2 Asam Palmitat Minyak Biji Alpukat 59
Gambar 8 . Pola Fragmentasi 3 Asam Palmitat Minyak Biji Alpukat 59
Gambar 9. Pola Fragmentasi 4 Asam Palmitat Minyak Biji Alpukat 60
Gambar 10 . Spektrum Puncak 3 Minyak Biji Alpukat 61
Gambar 11. Pola Fragmentasi 1 Asam Oleat Minyak Biji Alpukat..... 61
Gambar 12.Pola Fragmentasi 2 Asam Oleat Minyak Biji Alpukat..... 62
Gambar 13.Pola Fragmentasi 3 Asam Oleat Minyak Biji Alpukat..... 63
Gambar 14.Grafik Penimbangan Bobot Tikus Setiap Tiga Hari Sekali 69
Gambar 15.Diagram perbandingan Jumlah Sel Leukosit Antar Kelompok Perlakuan..... 75
Gambar 16.Hasil Pengamatan Se Darah dengan Menggunkan Mikroskop Olympus CX21Perbesaran 40x 79
Gambar 17.Hasil Pengamatan dengan menggunkan Mikroskop Olympus CX21Perbesaran 40x (a) Neutrofil, (b) Monosit dan (c) Limfosit 80
Gambar 18.Hasil Pengamatan Neutrofil dengan Mikroskop Binokuler Olympus CX21 Perbesaran 40x 80
Gambar 19.Hasil Pengamatan Monosit Dengan Mikroskop Binokuler Olympus CX21 perbesaran 40x 81
Gambar 20.Hasil Pengamatan Limfosit Dengan Mikroskop Binokuler Olympus CX21 Perbesaran 40x 82
Gambar 21.Diagram Perbandingan Jumlah Sel Limfosit Antar Kelompok Perlakuan..... 83
Gambar 22.Diagram Perbandingan Jumlah Sel Monosit Antar Kelompok

Perlakuan..... 85
Gambar 23.Diagram Perbandingan Jumlah Sel Neutrofil Antar Kelompok Perlakuan..... 87
Gambar 24. Diagram Perbandingan Jumlah Sel T CD_4 Antar Kelompok Perlakuan..... 90

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Asam Lemak Biji Alpukat 10
Tabel 2. Standar McFraland 33
Tabel 3. Kelompok Hewan Uji 39
Tabel 4. Hasil Uji Karakteristik Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*..... 49
Tabel 5. Uji Pemeriksaan Organoleptis 50
Tabel 6. Hasil Uji Karakteristik Minyak Biji Alpukat 53
Tabel 7. Hasil Kromatografi Gas 55
Tabel 8. Nilai absorbansi larutan McFarland 64
Tabel 9. Nilai Absorbansi Suspensi Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*..... 65
Tabel 10.Hasil Pengukuran pH 66
Tabel 11.Hasil Pengukuran Berat Badan Hewan Uji Sebelum Perlakuaan 68
Tabel 12.Hasil Pengukuran Berat Badan Hewan Uji Setelah Perlakuan 69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Umum 104
Lampiran 2. Uji katalase 105
Lampiran 3. Pewarnaan gram 106
Lampiran 4. Peremajaan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus bulgaricus*)... 107
Lampiran 5. Preparasi Bakteri Probiotik dan Pembuatan Suspensi Bakteri Uji 108
Lampiran 6. Pembuatan larutan McFarland 109
Lampiran 7. Pengukuran Jumlah bakteri menggunakan spektrofotometer.... 110
Lampiran 8. Pemeriksaan organoleptis 111
Lampiran 9. Pemeriksaan bobot jenis 112
Lampiran 10. Pemeriksaan viskositas 113
Lampiran 11. Indeks Bias 114
Lampiran 12. Kelarutan 115
Lampiran 13. Analisis Komponen Minyak Biji Biji Alpukat Dengan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS) 116
Lampiran 14. Preparasi Sampel Minyak Biji Alpukat 117
Lampiran 15. Pengukuran pH 117
Lampiran 16. Persiapan Hewan Uji Dan Desain Penelitian 118
Lampiran 17. Perlakuan dan Pemberian Sediaan Uji 119
Lampiran 18. Evaluasi Jumlah Total Leukosit 119
Lampiran 19. Persentase Monosit, Limfosit , dan Neutrofil 120
Lampiran 20. Evaluasi Jumlah Sel T CD_4 121
Lampiran 21. Analisis Data 122
Lampiran 22. Perhitungan Dosis 123
Lampiran 23. Perhitungan Bobot Jenis 124
Lampiran 24. Perhitungan Viskositas 124
Lampiran 25. Uji Karakteristik Minyak Biji Alpukat 125

DAFTRAR LAMPIRAN

Lampiran 26.Uji Karakteristik *Lactobacillus bulgaricus* 127
Lampiran 27.Hasil Pengukuran pH 128
Lampiran 28.Hasil pemeriksaan Spektrofotometri GC-MS Minyak Biji Alpukat 129
Lampiran 29.Hasil Uji Statistika Data Sel Leukosit 130
Lampiran 30.Hasil Uji Statistika Data Sel Limfosit 133
Lampiran 31.Hasil Uji Statistika Data Sel Monosit 136
Lampiran 32.Hasil Uji Statistika Data Sel Neutrofil 139
Lampiran 33.Hasil Uji Statistika Data Sel T CD_4 142
Lampiran 34. Kode Etik 145
Lampiran 35.Sertifikat Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* 146
Lampiran 36.Sertifikat Minyak Biji Alpukat 147
Lampiran 37.Sertifikat Media MRSB 148
Lampiran 38. Proses Kegiatan Penelitian 149

DAFTAR SINGKATAN

H_2SO_4	: Asam Sulfat
$BaCl_2$	: Barium Klorida
H_2O_2	: Hidrogen Peroksida
CD	: *Cluster of Differentiation*
CFU	: *Colony Forming Unit*
NaOH	: Natrium Hidroksida
cP	: *centipoise*
MRSB	: *De Man Rogosa Sharpe Broth*
SFA	: *Saturated Fatty Acid*
MUFA	: *Monounsaturated Fatty Acid*
PUFA	: *Polyunsaturated Fatty Acid*
SCFA	: *Short Chain Fatty Acids*
MCFA	: *Medium Chain Fatty Acids*
LCFA	: *Long Chain Fatty Acid*
CH_3COOH	: Asam Asetat
EDTA	: *Ethylenediamine tetraacetic acid*
LAF	: *Laminar air flow*
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
GC-MS	: Gas Chromatography - Mass Spectroscopy
LPS	: Lipopolisakarida
MHC	: *Mitogen Activated Protein Kinase*
PRPs	: *Pattern recognition receptors*
mL	: MilliLiter
g	: Gram
NaCl	: Natrium Klorida
NK	: *Natural Killer*
PMNs	: *Polymorphonuclear Leukocytes*
Sel Th	: Sel T *helper*
TNF	: *Tumor Necrosis Factor*
CRP	*: C-reactive protein*
HMI	: *Humoral mediated immunity*
CMI	: *Cell mediated immunity*
UV-Vis	: *Ultraviolet Visible*
pH	: *Power of Hydrogen*
ANOVA	: *Analysis of Variance*
P-Value	: *Probability Value*
SD	: Standar Deviasi
Sig	: Signifikasi
SPSS	: *Statistical Package for the Social Science*

DAFTAR ISTILAH

Antibodi	: Zat yang dibentuk untuk memusnahkan antigen
Antigen	: Zat yang dapat bertindak sebagai toksin
Fagositosis	: Proses seluler dari fagosit untuk menelan partikel
Imunomodulator	: Senyawa yang dapat memodulasi respon imun spesifik dan atau non spesifik
Imunostimulan	: Senyawa yang dapat meningkatkan respon imun
Imunosupresan	: Senyawa yang dapat mengurangi respon imun
Inflamasi	: Peradangan diakibatkan respon dari sistem imun
Interleukin	: Sekelompok protein yang disekresikan sebagai sinyal untuk mengaktivasi sistem imun
Lisis	: Peristiwa pecah atau kerusakan integritas membrane sel dan mengakibatkan organel sel keluar
Mitogen	: Senyawa organik yang berperan dalam menstimulasi proses mitosis
Pirogen	: Substansi penyebab demam
Preparat	: Objek yang diamati pada mikroskop
Fiksasi	: Proses membunuh bakteri di atas nyala api dan membuat sel-sel bakteri tersebut melekat pada gelas objek
Proliferasi	: Fase siklus sel tanpa adanya hambatan
Host	: Sel inang
Anaerob fakultatif	: Bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam dunia kesehatan bermacam kegiatan telah dilakukan agar dapat meningkatkan sitem imun tubuh. Jika sistem imun tubuh menurun maka dapat menyebabkan mikroorganisme patogen tumbuh dan berkembang dengan mudah di dalam tubuh manusia. Sistem imun sendiri merupakan kemampuan tubuh agar dapat melawan berbagai macam mikoorganisme patogen. Sistem imun diperlukan untuk mempertahankan dan melindungi tubuh dari berbagai acaman dari luar (Bratawijaya, 2006). Sistem imunitas yang ada dalam tubuh akan berusaha untuk membunuh mikroorganisme patogen yang masuk dalam tubuh manusia. Hal ini yang menjadi alasan agar sistem imun pada tubuh manusia dapat mengalami peningkatan.

Dalam tubuh manusia sudah terdapat sistem imunitas sehingga dapat membunuh mikroorganisme yang patogen, namun ketika imunitas dalam tubuh manusia menurun maka menyebabkan suatu penyakit. Hal ini menunjukkan bahwa sistem imun dalam tubuh tersebut berkurang. Sehingga perlu dilakukan usaha untuk mempertahankan dan meningkatkan sistem imun agar dapat bekerja untuk mempertahankan diri dari paparan mikroorganisme patogen (Radji dan Biomed, 2010).

Salah satu yang dilakukan ketika sistem imunitas tidak dapat bekerja dengan baik yaitu dengan memberikan imunostimulan sehingga sistem imunitas akan meningkat. Imunostimulan dapat digunakan untuk menyingkirkan mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan penyakit. Selain itu juga imunostimulan dapat meringankan gejala dari penyakit dan dapat mempercepat proses penyembuhan penyakit (Bratawijaya & rengganis, 2012).

Imunostimulan akan mengaktivasi peningkatan fagositosis, jumlah dari sel limfosit T, melepaskan interleukin dan interferon serta mengaktivasi sel NK (Tjay dan Rahardja, 2007). Imunostimulan dapat bekerja dalam peningkatan sistem imunitas tubuh dengan menggunakan bahan yang memiliki sifat merangsang imunitas tubuh. Salah satunya yaitu probiotik yang diketahui memiliki sifat yang menguntungkan bagi *host* karena dapat memperbaiki status imun dari *host* dengan cara meningkatkan mikrobiota usus sehingga memperbaiki status saluran cerna (Roselli *et al.*2017).

Probiotik berupa mikroorganisme hidup dapat dijadikan sebagai suplemen pangan yang diketahui memiliki kemampuan dalam memodulasi sistem imun inangnya (Kusumaningsih, 2014). Kebiasaan mengkonsumsi probiotik dapat meningkatkan pertahanan imunitas nonspesfik. Probiotik dari spesies *Lactobacillus Bulgaricus* dan *Lactobacillus casei* memiliki kemampuan yakni mengaktivasi fagosit sehingga makrofag akan mengalami peningkatan. Proses fagosit dilakukan agar

benda- benda asing yang dianggap toksik dalam tubuh dapat dibunuh (Wahyuningsih *et al*. 2014).

Namun probiotik memiliki rasa asam karena termasuk bakteri asam laktat (pH 4-5,5) sehingga tidak cocok digunakan bagi konsumen yang memiliki asam lambung tinggi. Oleh karena itu diperlukan produk yang dapat meminimalisir sifat asam dari probiotik tersebut yaitu dengan menggunakan minyak yang memiliki rentang pH 6,5-8. Sehingga berdasarkan pH dari masing- masing komponen tersebut diharapkan kombinasi dari komponen ini dapat memiliki rentang pH yang dapat digunakan untuk konsumen yang memiliki asam lambung tinggi. Selain itu, berdasarkan penelitian ternyata ada beberapa minyak yang juga memiliki kemampuan untuk peningkatan sistem imunitas tubuh. Karena adanya asam lemak pada minyak tersebut. Selain itu efek kesehatan dari minyak karena kandungan omega-6 & omega-3 dari minyak juga penting bagi manusia(Soussi *et al*. 2018).

Produk minyak yang dapat meningkatkan sistem imun adalah minyak-minyak yang mengandung asam miristat, asam oleat, asam kaproat, asam palmitat, asam stearat, asam laurat, asam kaprat dan asam kaprilat. Asam lemak pada minyak terutama yang mengandung asam miristat, laurat dan palmitat dapat meningkatkan aktivitas makrofag (Yuniwarti, *et al*, 2013). Kandungan asam lemak yang ada dalam minyak juga dapat meningkatkan jumlah sel limfosit Th-CD_4 (Yuniwarti *et al.* 2012). Minyak yang mengandung asam-asam lemak tak jenuh rantai panjang juga dapat mempengaruhi fungsi monosit, fagosit dan proliferasi limfosit (Calder, 1996).

Salah satu tanaman sumber minyak nabati yaitu minyak biji alpukat. Namun kebanyakan masyarakat hanya memanfaatkan buahnya saja untuk dimakan. Padahal biji alpukat sendiri mengandung protein yang tinggi dan biji alpukat mengandung minyak yang dapat digunakan sebagai sumber minyak nabati (Prasetyowati, 2010). Komposisi asam-asam lemak yang terdapat di minyak biji alpukat meliputu asam laurat, asam oleat, asam linoleat, asam palmitat, asam miristat, asam stearat, asam palmitoleat, dan asam margaroleat (Risnoyatiningsih, 2010).

Berdasarkan sifat dari probiotik dan kandungan asam lemak minyak biji alpukat tersebut maka dalam penelitian ini dibuat kombinasi probiotik dengan minyak biji alpukat. Sehingga kombinasi probiotik dengan minyak biji alpukat diharapkan dapat meminimalisir sifat asam dari probiotik tersebut. Selain itu, juga untuk melihat pengaruh sinergisme dari kombinasi probiotik dengan minyak biji alpukat terhadap peningkatan jumlah sel limfosit dan sistem imun tubuh.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa pH dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, minyak biji alpukat dan kombinasi probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat (*Persea americana* Mill)?
2. Bagaimana pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat pada jumlah total sel leukosit terhadap tikus putih jantan?

3. Bagaimana pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat pada jenis sel leukosit (Neutrofil, Monosit dan Limfosit) terhadap tikus putih jantan?
4. Bagaimana pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat pada jumlah sel T CD_4 terhadap tikus putih jantan?
5. Berapa konsentrasi yang paling efektif dari pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat yang dapat meningkatkan jumlah total sel leukosit, jenis sel leukosit (neutrofil, monosit dan limfosit) dan jumlah sel T CD_4 terhadap tikus putih jantan?

1.2 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pH kombinasi probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dan minyak biji alpukat (*Persea americana* Mill).
2. Menentukan pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat pada jumlah total sel leukosit terhadap tikus putih jantan.
3. Menentukan pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat terhadap jenis sel leukosit (neutrofil, monosit dan limfosit) pada tikus putih jantan.
4. Menentukan pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat (*Persea americana* Mill) pada jumlah sel T CD_4 pada tikus putih jantan.

5. Menentukan konsentrasi yang paling efektif dari pemberian probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat yang dapat meningkatkan jumlah total sel leukosit, jenis sel leukosit (Neutrofil, Monosit dan Limfosit) dan jumlah sel T CD_4 pada tikus putih jantan.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi acuan informasi terkait kombinasi probiotik *Lactobacillus bulgaricus* dengan minyak biji alpukat dalam meningkatkan jumlah sel leukosit dan jumlah sel T CD_4 terhadap tikus putih jantan dan juga dapat memberikan informasi alternatif bentuk sediaan probiotik yang dikombinasikan dengan produk lain seperti minyak sehingga dapat meminimalkan rasa asam dari probiotik tersebut. Selain itu juga memberikan informasi mengenai potensi kombinasi probiotik dengan minyak biji alpukat sebagai sediaan pangan fungsional dan hasil dari penelitian bisa dipakai dalam kegiatan penelitian-penelitian lainnya untuk para ilmuan dan peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

Abast, M.A., Koleangan, H., Pontoh, J. 2016, Analisis asam lemak dalam minyak kelapa murni menggunakan derivitasi katalis basa, *Jurnal MIPA Unsrat,* **5(1)**: 30.

Ari, K.G.D., Basori, A., Made, N.S. 2016, Pengembangan Metode Gc-Ms untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia, *Jurnal Biosains Pascasarjana,* **18(3)**: 66.

Aripin, I. 2019, Pendidikan Nilai Pada Materei Konsep Sistem Imun, *Jurnal Bio Education,* **4(1)**: 4-7.

Arpi, N. 2013, Profil *Medium Chain Fatty Acids* (MCFA) dan Sifat Kimia Minyak Kelapa (*Virgin Coconut Oil/Vco*, Minyak *Simplah*, *Pliek U,* Klentik, dan Kopra) Dibandingkan dengan Minyak Sawit, *Jurnal Sagu,* **12(2)**: 23-31.

Arsanti, L.L. dan Helmyati. S. 2018, *Peran probioti dibidang gizi dan kesehatan*, UGM Press,Yogyakarta, Indonesia.

Astawan, M *et al*. 2011, Gambaran Hematologi Tikus Putih (Rattus norvegikus) yang Di Infeksi E. *coli* Enteropatogenik dan Diberikan Probiotik, *Jurnal Media Peternakan,* **34(1)**: 8.

Attouri, N., Bouras D. Tome, A. Marcos, dan D. Lemonnier. 2002. Oral Ingestion of Lactic Acid Bacteria by Rats Increasea Lymphocyte Proliferation and Interferon-γ Production. *Br. J. Nutr*. **87(1)**: 367-373.

Badan Pusat Statistika. 2013, Survey Petanian Produksi Buah- Buahan di Indonesia, Biro Pusat Statistika Jakarta, Indonesia.

Bain, B.J. 2014, *Blood cells:a practical guide,* John Wiley & Sons, Amerika Serikat.

Bawalan, D.D. dan Chapman, K.R. 2006, Virgin Coconut Oil Production Manual for Micro and Village-Scale Processing, FAO Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.

Berghuis, N.T., Tamako, P.D.U. dan Supriadin, A. 2019, Pemanfaatan Limbah Biji Alpukat (*Persea americana*) sebagai Bahan Baku Biodiesel, *al-Kimiya:Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan,* ***6*(1)**: 38-39.

Bratawijaya, K.G. 2006, I*munologi Dasar Edisi Ke-7,* Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia.

Bratawijaya, G.K dan Rengganis, I. 2012, *Imunologi Dasar Edisi 10,* FKUI, Jakarta, Indonesia.

Calder, P. C. 1996, Immunomodulatory and Anti-inflammatory Effects of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids, *Proceedings of the Nutrition Society*, ***55*(2)**: 737 - 774.

Chandra, A., Inggrid, H.M., Verawati. 2013, Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakteristik Pati Dari Biji Alpukat, *Lembaga Penelitian dan Pe-*

ngabdan kepadaMasyarakat, Universitas Katolik Parahyangan, Bandung.

Darmadi dan Permatasari, D. 2018, Perbedaan Jumlah Leukosit Darah EDTA Diperiksa Seger dan Ditunda 2 Jam. *Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains*, **6(2)**: 32-33.

Damin, S. H., Alam, N., & Sarro, D. 2017, Karakteristik Virgin Coconut Oil (VCO) Yang Di Panen Pada Berbagai Ketinggian Tempat Tumbuh, *AGROTEKBIS: E-Jurnal Ilmu Pertanian*, **5(4)**: 431-440.

De Pablo, Manuel A., et al. 1998, Influence of Diets Containing Olive Oil, Sun flower Oil or Hydrogenated Coconut Oil on the Immune Response Of Mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, **25(1)**: 11-23.

Dyah, F. K. 2010, Potensi Probiotik dalam Mekanisme Sistem Imunitas, *Majalah Kedokteran FK UKI*, **27(4):** 189-191.

D'Hiru. 2013, *Live Blood Analysis Setetes Darah Anda Dapat Mengungkapkan Status Kesehatan dan Penyakit yang Mengancam Anda*, PT Gramedia Pustaka Utama, jakarta, Indonesia.

Fife, B. 2006, *Virgin Coconut Oil: Nature's Miracle Medicine*, Piccadilly Books, Ltd, USA.

Feliatra, 2018. *Probiotik*,Prenada Media, Jakarta, Indonesia.

Fitrah, D., Sandra, Ms Rini, Y. 2014, *Pengaruh Lama Ekstrak dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (Theobroma Cacao I.)*, FTP-UniversitasBrawijaya, Malang, Indonesia.

Founier, P., Wilde, H., Schirrmacher, V. 2012, Importance Of Retinoic Acid Inducible Gene I and of Receptor for Type I Interferon for Cellular Resistance to Infection by Newcastle Disease Virus, *Int J Oncol*,**40(1)**: 287-298.

Ferdous, F., Maurice, D., Scott, T. 2008, Broiler Chick Thrombocyte Response to Lipopolysaccharide, *Poult Sci*, **87(1)**: 61-63.

Harianingsih, R.W., Harliyanto. C., Andiani, C.N. 2017, Identifikasi GC-MS ekstrak minyak atsiri dari sereh wangi (*Cymbopogon winterianus*) menggunakan pelarut metanol, *Techno*, **18(1)**: 23-28.

Hartono, Muthiadin, C., Bakri, Z. 2012, Daya hambat sinbiotik ekstrak inulin bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Jurnal bionature*, **13(1)**: 33.

Hasan, A. E. Z., Artika, I. M., & Abidin, S. 2014, Produksi asam laktat dan pola pertumbuhan bakteri asam laktat dengan pemberian dosis rendah propolis trigona spp asal pandeglang indonesia, *Current Biochemistry*, **1(3)**: 126-135.

Hendarto, D. R., Handayani, A. P., Esterelita, E., & Handoko, Y. A. 2019, Mekanis-

me Biokimiawi dan Optimalisasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam Pengolahan Yoghurt yang Berkualitas, *Jurnal Sains Dasar*, **8(1)**: 13-19.

Idris, A., Jura, M.R., Said, I. 2014, Analisis Kualitas Minyak Nilam (Pogostemon Cablin Benth) Produksi Kabupaten Buol, *Jurnal Akademika Kimia*, **3(2)**: 303-304.

Istini. 2020, Pemanfaatan Plastik Polipropilen *Standing Pouch* Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium, *Indonesian Journal of Laboratory*, **2(3)**: 41-46.

Inverness Medical. 2009, Alere Pima Analayzer CD_4 Automated hematology Analayzer, Diakses pada tanggal 13 April 2021, <http://www.alere.com/en/home/product-details/PimaAnalayzerOUS.html>.

Khila, N. F. 2018, *Mengenal Sel- Sel Darah dan Kelainan Darah*, Universitas Brawijaya Press, Malang, Indonesia.

Kurniawan,R.F. 2014, *Khasiat Dahsyat Alpukat Mengobati dan Mencegah Semua Penyakit*, Mahadaya Langit, Jakarta, Indonesia.

Kusumaningsih, T. 2014, The Role of Probiotic Bacteria on Innate Immune Cells, *Oral Biology Journal*, **6(2)**: 46-48.

Kiswari, R. 2014, Hematologi dan Tranfusi , Penerbit Erlangga, Jakarta, Indonesia.

Lestari. 2014, Uji Daya Hidup Bakteri Asam Laktat Sebagai Kandidat Probiotik Pada Beberapa Media Preparasi Air minum Unggas, *Skripsi*, Universitas Lampung, Bandar Lampung.

Letran, S.E., Lee, S.J, Arif, S.M., Uematsu, Akira, S., Mcsorley, S.J. 2011. TLR5 Function As An Endocytic Receptor To Enhance Flagellin-Specific Adative Immunity. *Eur JImmunol*. **41(1)**: 29-38.

Mahima *et al*. 2013, Imunomodulator And Therapeutic Potensials of Herbaal, Traditional of Indogenous and Ethnoveterinary Medicine, *Pakistan Journal Of Biological Science*,**(15)16**: 759-762.

Mahooti, M., Miri, S. M., Abdolalipour, E., & Ghaemi, A. 2020, The Immunomodulatory Effects of Probiotics on Respiratory Viral Infections: A Hint for COVID-19 Treatment?, *Microbial Pathogenesis*, 104452.

Malaka, R dan Laga. A. 2005, Isolasi Dan Identifikasi *Lactobacillus bulgaricus* Strain Ropy dari Yoghurt Komersial, *Jurnal Sains & Teknologi*, **5(1**): 50-58.

Mandei, J. 2019, Formulasi Minuman Emulsi VCO Menggunakan Variasi Emulsifier (Gum Arab dan Tween 80) dan Air, *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, **14(1)**:

12-19.

Mardiah, M., Nur'utami, D. A., & Hastuti, A. (2019). Pengaruh Pemberian Serbuk Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Sistem Imun Tikus Sprague Dawley. *Jurnal Agroindustri Halal*, **5(1)**, 017-029.

Marlina, L dan Wahyu, D. P. 2018, Pengambilan Minyak Biji Alpukat dengan Metode Ektraksi, TEDC, **12(1)**: 31-32.

Marlinda, M., Sangia, M. S., dan Wuntua, A.D. 2012, Analisis Senyawa Metanolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (Persea *Americana* Mill*), Jurnal MipaUnsrat Online,* **1(1**): 24-28.

Mazengia, H, Gelaye E, Nega, M. 2009, Evaluation Of Newcastle Disease Antibody Level After Different Vaccination Regimes In Three Districts Of Amhararegion, Northwestern Ethiopia, *J Infect Dis Immu,* **1(1)**:16-19.

Ma'at, S, 2010*, Imunomodulator Manfaat dan Bahayanya, dalam Seminar Nasional Farmasi 2010,* Stipar Yayasan Pharmasi, Semarang, Indonesia.

Morshedi, M., Hashemi, R., Moazzen, S., Sahebkar, A., & Hosseinifard, E. S. 2019, Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Effects of Probiotics in Multiple Sclerosis: A Systematic Review, *Journal of Neuroinflammation,* **16(1)**: 1-11.

Nayak, S. K. 2010, Probiotics and Immunity: A Fish Perspective, *Fish And Shellfish Immunology,* **29(1)**: 2-14.

Nelitong, N *et al*. 2015, *Aktivitas Antibakteri Susu Bakteri Lactobacilli Terhadap Bakteri penyebab Diare (Escherichia Coli, Salmonella Thyphimurium, Vibrio Cholerae*),Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Dapartemen Kimia Farmasi, Jakarta, Indonesia.

Ningsih, N.P., Sari. R., Apridamayanti. P. 2018, Optimasi Aktivitas Bakteriosin Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus brevis* Dari Es Pisang Ijo, *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains,* 7(2): 236-237.

Noorul, H *et al*. 2016, Health Benefts and Pharmacology of *Persea Americana* Mill (avocado), *Internasional Jounal of Research In Phamacology and Pharmacotherapeutics,* **5(2)**: 132-141.

Nurhaen, Winarsii, D., Ridhay, A. 2016, Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri dari Daun, Batang, dan Bunga Tumbuhan Salembangu(*Melissa* sp.), *Journal of Natural Science,* **5(2)**: 149-157.

Nurhidayati, S., Faturrahman, Ghazali, M. 2015, Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Bergejala Penyakit Ice-Ice, *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, **1(2)**: 26-28.

Olivia, M., Hartono, M., & Wanniatie, V. 2015, Pengaruh jenis bahan litter terhadap gambaran darah broiler yang dipelihara di closed house, *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, **3(1)**: 23-28.

Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. 2010, Bacteria and Chocolate: A Successful Combination for Probiotic Delivery, *International Journal of Food Microbiology*, ***141*(1-2)**, 97-103.

Prasetyowati, Retno, P., Fer, T. O. 2010, Pengambilan Minyak Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill) dengan Metode Ekstraksi, *Jurnal Teknik Kimia*,**17(2)**: 16-18.

Prasetyo, Heru. 2010. *Pengaruh Penggunaan Starter Yogurt pada Level Tertentu terhadap Karakteristik Yogurt yang Dihasilkan*, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia.

Purkan, P., Nisdiyatul, N. L., Sumarsih, S. 2017, *Lactobacillus bulgaricus* Sebagai Probiotik Guna Peningkatan Kualitas Ampas Tahu untuk Pakan Cacing Tanah, *Jurnal Kimia Riset*,**1(2)**: 1-9.

Putri, A. A., Erina, E., & Fakhrurrazi, F. 2018, Isolasi Bakteri Asam Laktat Genus Lactobacillus dari Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*), *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, ***2*(2)**: 170-176.

Radji, M. dan Biomed, M. 2010, *Imunologi dan Virologi*, PT. ISFI, Jakarta, Indonesia.

Rasyad, A. A., Mahendra, P., Hamdani, Y. 2012, Uji Nefrotoksik dari Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia Mahagoni* Jacg) terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar, *JurnalPenelitianSains*,**15(1)**: 80-81.

Risnoyatiningsih, S. 2010. Biodiesel from Avocado Seeds by Transesterification Proces, *Jurnal Teknik Kimia*,**5(1)**: 347.

Roselli, M., Pieper, R., Rogel-Gaillard, C., de Vries, H., Bailey, M., Smidt, H., & Lauridsen, C. 2017, Immunomodulating Effects of Probiotics for Microbiota Modulation, Gut Health and Disease Resistance in Pigs. *Animal Feed Science and Technology*, **233(1)**, 104-119.

Rosida, I., Ningsih, S., Renggani, T.N., Agustini, K., Efendi, J. 2020, Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague-Dawley* Jantan Umur 7 dan 10 Minggu, *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, **7(1)**: 137-143.

Rosmania dan Yanti, F. 2020, Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri, *Jurnal PenelitianSains*,**22(2)**: 78-79.

Rudy, A.N dan Fiman, M. N. 2018, *Potensi Bahan Hayati Sebagai Imunostimulan Hewan Akustik*, CV Budi Utama, Yogyakarta, Indonesia.

Samsiati, E. H. 2016, *Penentuan Aktivitas dan Identifikasi Senyawa Aktif Antioksidan*

dalam Biji Buah Alpukat, Tesis Postgraduate, Fakultas Farmasi,Universitas Gadjah Mada,Yogyakarta, Indonesia.

Saputra, H. 2015, Penentuan Sifat Fisiko Kimia dan Komposisi Asam Lemak Penyusun Trigliserida Minyak Alpukat Unggul dan Lokal Solok, Universitas Andalas, Indonesia.

Sari, P. P., Nurliana, N., Hasan, M., Sayuti, A., Sugito, S., & Amiruddin, A, 2017, *Lactobacillus casei* Fermented Milk as a Treatment for Diabetes in Mice (*Mus musculus*). *Jurnal Medika Veterinaria*, *11*(1), 15-19.

Silalahi, J. dan Nurbaya, S. 2011, Komposisi, Distribusi dan Sifat Aterogenik Asam Lemak dalam Minyak Kelapa dan Kelapa Sawit. *J Indon Med Assoc*, **61(11)**: 453-7.

Sipahelut, S.G. 2019, Perbandingan Komponen Aktif Minyak Atsiri dari Daging Buah Pala Kering *Cabinet Dryer* Melalui Metode Distilasi Air dan Air-Uap, *Jurnal Teknologi Pertania*, **8(1)**: 8-13.

Soussi, A., Gargouri, M., & El Feki, A. 2018, Potential Immunomodulatory and Antioxidant Effects of Walnut Juglans Regia Vegetable Oil Against Lead-Mediated Hepatic Damage and Their Interaction with Lipase Activity in Rats. *Environmental Toxicology*, **33(12)**: 1261-1271.

Sparkman, O. D., Penton, Z., Fulton, G. 2011, *Gas Chromatography and Mass Spectrometry : A Practical Guide*, Elsevier.

Subagiyo, S., Margino, S., & Triyanto, T. 2016, Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen dan Fosforpada Medium de Man Rogosa and Sharpe (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid, *Jurnal Kelautan Tropis*, **18(3)**: 127-132.

Subowo. 2009, *Imunologi*, Sagung Seto, Jakarta, Indonesia

Suhaeni dan Syakur, A. 2016, Isolasi dan Identifkasi Bakteri Asam Laktat Dangke Asal Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan, *Jurnal Ilmiah Biologi*, **4(2)**: 80..

Sukmayadi, A *et al*. 2014, Aktivitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. **1(2)**: 65-72.

Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C. I., & Rahayu, E. S. 2012, Peran probiotik bakteri asam laktat terhadap produktivitas unggas, *Jurnal Litbang Provinsi Jawa Tengah*, **10(1)**: 1-9.

Suparni. 2013, *Hubungan Antara Pola Hidup Terhadap Kondisi Fisik Penderita HIV yang Berobat di Rumah Sakit Dr. Iskak Tulung Agung*, Politeknik Kesehatan

Surabaya, Surabaya, Indonesia.

Surono, I. 2004, *Probiotik: Susu Fermentasi dan Kesehatan*, Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia, Jakarta, Indonesia.

Susanto, T. 2013, Perbandingan Mutu Minyak Kelapa yang Diproses Melalui Pengasaman dan Pemanasan Sesuai SNI 2902-2011, *Jurnal Hail Penelitian Industri*, **26(1)**: 1-10.

Syaiffudin. 2019, *Imunologi Dasar : Prinsif Dasar Sistem Kekebalan Tubuh*, Cendekia Publisher, Jakarta, Indonesia.

Sysmex Coorporation. 2012, Sysmex KX-21N Automated hematology Analayzer, Diakses pada tanggal 12 Mei 2021, <http://www.sysmex.com/us/en/brochures/>.

Utami, T.E., Risqillah, U., Fajariah, S. 2019, Profil Hematologi Mencit (*Mus musculus* L.) Strain Balb/c Jantan Akibat Paparan Asap Rokok Elektrik, *Jurnal Biologi Udayana*, **24(2)**: 115-125.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000, Probiotic Bacteria as Biological Control Agents In Aquaculture, *Microbiolgical and Moleculer BiologyReview*, **64(4)**: 655-671.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000, Probiotic Bacteria As Biological Control Agents In Aquaculture, *Microbiolgical And Moleculer BiologyReview*, **64(4)**: 2527-2533.

Wahyuningsih, R., Darmono, S. S., Margawati, A. 2014, Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus helviticus* Rosell-52 dan *Lactobasillus rhamnosa* Rosell-11 Terhadap Kadar Limfosit Usia Lanjut, *Jurnal GiziIndonesia*,**3(1)**: 17.

Waluyo, L. 2010, Teknik Metode Dasar Mikrobologi, UMM press, Malang, Indonesia.

Widyaningrum, H., Simanjutak, S. B. I., & Susatyo, P. 2017, Diferensial Leukosit Ikan Gurami (Osphronemus Gouramy Lac.) Dengan Perbedaan Level Suplementasi Spirulina Platensis Dalam Pakan, *Scripta Biologica*, **4(1)**: 37-40.

Widiyaningsih, E.N. 2011, Peran Probiotik Untuk Kesehatan, *Jurnal Kesehatan*, **4(1)**: 14-20.

Widyawati, Y., Mageswara, F.A., Permana, S.A. 2020, Optimasi Proses Sokletasi Menggunakan Metode Permukaan Respon dan Karakterisasi Minyak Biji Alpukat (*Persea Americana*), *Jurnal Teknologi*, **7(2)**: 97-109.

Wijayati, N., Astutiningsih, C., mulyati, S. 2014, Transformation α-Pinena by Bacteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923, *Journal of Biology & Biology Educa*

tion, **6(1)**: 25-26.

Yuniwarti, E.Y.W., Asmara, W., Artama, W.T., Tabbu, C.R. 2012 The Effect of Virgin Coconut Oil on Lymphocyte and CD4 in Chicken Vaccinated Against Avian Influenza Virus, *JIndonesian Trop Anim Agric*, **37(1)**: 66-67.

Yuniwarti, E.Y.W., Asmara, W., Artama, W.T., Tabbu, C.R. 2013 Virgin Coconut Oil Increases the Phagocytosis Acivity of Macrophage of Broiler Chicken Following Avian Influenza Vaccination. *Jur.Vet*,**14(2)**: 191-194.

Zuhrotun, A.2007, Aktivitas Antidoabetes Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) Bentuk Bulat, *Karya Ilmiah*, Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran Jatinango, Bandung, Indonesia.