UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (Persea americana Mill.) TERHADAP BAKTERI Salmonella typhi DAN Staphylococcus aureus

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF AVOCADO (Persea americana Mill.) LEAF AGAINST Salmonella typhi AND Staphylococcus aureus

Fara Azzahra¹, Elvan Arefadil Almalik¹, Atmi Atkha Sari¹

¹ Program Studi Diploma III Farmasi Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta Korespondensi: faraazzahra@afi.ac.id

ABSTRAK

Daun alpukat merupakan salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Kandungan kimia flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri *S. thypi* dan *S. aureus*.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat dilakukan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%, kelompok kontrol positif siprofloksasin, kontrol negatif *aquadest* steril, serta kontrol pelarut etanol dengan metode difusi cakram. Setiap perlakuan diinokulasikan dengan suspensi bakteri kemudian ditetesi ekstrak etanol daun alpukat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, diamati dan diukur zona bening disekitar kertas cakram. Hasil yang diperoleh dianalisis berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards* (CLSI).

Ekstrak etanol daun alpukat konsentrasi 100% menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap S.aureus sebesar 10.68 ± 0.43 mm, sedangkan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap S.typi berturut-turut 8.50 ± 0.38 mm; 7.45 ± 1.03 mm; 9.35 ± 0.20 ; 9.23 ± 0.08 mm dan 9.44 ± 0.36 mm, kontrol negatif terhadap S.typhi dan S.aureus masing-masing sebesar 0 ± 0 mm dan 0 ± 0 mm, kontrol positif siproflokasin terhadap S.typhi dan S.aureus masing-masing sebesar 25.92 ± 0.30 mm dan 26.10 ± 0.20 mm. Zona hambat Ekstrak etanol daun alpukat terhadap pertumbuhan bakteri S.typhi dan S.aureus menunjukkan kategori antibakteri resisten. Zona hambat siprofloksasin menunjukkan kategori antibakteri intermediat pada bakteri S.typhi dan sensitif pada bakteri S.typhi dan S.aureus.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat memiliki aktivitas menghambat bakteri *S.typhi* dan *S.aureus*, namun potensinya dalam menghambat *S.typhi* dan *S.aureus* tidak sebanding dengan siprofloksasin.

Kata Kunci: Daun Alpukat, Antibakteri, S. typhi, S. aureus,

ABSTRACT

Avocado leaf is one of the plants that can be use as an antibacterial. The chemical content of flavonoids, alkaloids, tannins and saponins has the potential to inhibit bacterial growth. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of avocado leaf against S. thypi and S. aureus bacteria.

Testing the antibacterial activity of the avocado leaf ethanol extract was carried out using concentrations of 20%, 40%, 60%, 80% and 100%, a positive control group of ciprofloxacin, a sterile aquadest negative control and ethanol solvent control by the disc diffusion method. Each treatment was inoculated with bacterial suspension and then ethanol extract of avocado leaves was incubated at $37\,^{\circ}$ C for

24 hours, then observed and measured clear zones around the disc paper. The results obtained were analyzed based on Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

Avocado leaf ethanol extract concentration of 100% showed antibacterial activity against S. aureus of 10.68 ± 0.43 mm, while at concentrations of 20%, 40%, 60%, 80% and 100% against S.typi respectively 8.50 ± 0.38 mm; 7.45 ± 1.03 mm; 9.35 ± 0.20 ; 9.23 ± 0.08 mm and 9.44 ± 0.36 mm, negative control of S. typhi and S. aureus were 0 ± 0 mm and 0 ± 0 mm respectively, positive control of ciprofloxacin against S. typhi and S. aureus were 25.92 ± 0.30 mm and 26.10 ± 0.20 mm, respectively. Inhibition zone The ethanol extract of avocado leaf on the growth of S.typhi and S. aureus bacteria showed a category of resistant antibacterial. The ciprofloxacin inhibitory zone shows intermediate antibacterial categories in S.typhi bacteria and sensitive to S. aureus bacteria, meaning that it has the potential to inhibit S.typhi and S. aureus bacteria.

Base on the results of the study it can be conclude that the ethanol extract of avocado leaf has the activity of inhibiting the bacteria S.typhi and S. aureus, but its potential in inhibiting S.typhi and S. aureus is not comparable to ciprofloxacin.

Keywords: Avocado leaf, Antibacterial, S. thypi, S.aureus,

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang (Radji, 2011). Penelitian bidang kesehatan menunjukkan penyakit infeksi banyak terjadi pada saluran pencernaan yang disebabkan karena bakteri *Salmonella typhi (S. typi)*, pada saluran pernafasan biasanya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus (S. aureus)* (Indang dkk., 2013 dan Salim, 2016).

Terapi penyakit infeksi oleh bakteri biasanya diobati dengan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara terus-menerus pada masyarakat dapat meningkatkan kejadian resistensi bakteri. Resistensi menjadi masalah besar karena mempersulit penyembuhan, peningkatan biaya pengobatan hingga meningkatkan resiko kematian (Rahayu, 2011 dan Indang dkk., 2013). Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi peluang untuk memanfaatkan senyawa bioaktif dari tanaman sebagai antibakteri (Nuria dkk.,2009 dan Sharif dkk.,2006).

Alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan salah satu tanaman yang mengandung zat antibakteri, terutama bagian daunnya (Arif, 2013). Ekstrak daun alpukat diketahui memiliki kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa bakteri (Charyadie, 2014). Penelitian oleh Anggorowati dkk. (2016) menunjukkan ekstrak daun alpukat memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus sp, Pseudomonas sp, Proteus sp, Escherichea sp*, dan *Bacillus sp*. Penelitian dilakukan oleh Kartika dan Arsito (2017) melaporkan fraksi etanol daun alpukat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 12,5%; 25% dan 50%. Sarinastiti (2018) melaporkan ekstrak etanol 96% daun alpukat dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%. Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitan mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri *S. typi* dan *S. aureus*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, blender, ayakan nomor 50 mesh, timbangan digital, toples bertutup, corong *Buchner*, *Rotary Evaporator*, lemari pendingin, cawan petri, kaca arloji, alumunium foil, kertas cakram, kapas, kassa steril, autoklaf, jarum ose, pinset, bunsen, *cotton bud* steril, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), *Hot plate*, mikro pipet, jangka sorong, alat-alat gelas, penggaris.

Bahan

Bahan yang digunakan penelitian dalam penelitian ini adalah isolat bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* diperoleh dari Balai Kesehatan Lingkungan Yogyakarta, daun alpukat, etanol 70%, *aquadest* steril, siprofloksasin infus, reagen Mg dan HCl pekat, FeCl₃ 1%, *Wagner*, *Dragendorf*, *Mayer*, Amoniak.

Jalannya Penelitian

Determinasi Daun Alpukat

Determinasi daun alpukat dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

Ekstraksi Daun Alpukat

Daun alpukat yang digunakan dalam penelitian berasal dari daerah Depok, Sleman, Yogyakarta. Daun alpukat segar dicuci bersih, ditimbang sebanyak 2 kg dan dikeringkan dibawah sinar matahari selama 3 hari. Setelah dikeringkan daun alpukat kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk daun alpukat diayak menggunakan ayakan nomor mesh. Penggunaan ayakan nomor mesh 40 bertujuan untuk memperkecil ukuran. Serbuk daun alpukat sebanyak 290,10 g direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 1,71 L, kemudian distirer 1 jam dan didiamkan selama 24 jam. Maserat yang diperoleh disaring. Filtrat diuapkan dengan menggunakan *Rotary Evaporator* pada suhu 50°C kemudian dilanjutkan di atas *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstraksi diletakkan dalam sebuah cawan porselin dan ditimbang beratnya (Kartika dan Arsito, 2017).

Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat

a. Uji Flavonoid

Ekstrak etanol daun alpukat sebanyak 1 mL dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan NaOH 10% sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Ekstrak etanol daun alpukat mengandung flavonoid bila larutan mengalami perubahan warna dari warna awal hijau muda menjadi warna kuning, merah, coklat, atau hijau (Mailuhi dkk., 2017).

b. Uii Tanin

Ekstrak etanol daun alpukat sebanyak 1 mg ditambahkan reagen FeCl₃ 1% sebanyak 2-3 tetes. Sampel dikatakan memiliki senyawa tanin apabila terbentuk warna hijau kehitaman maupun biru tua (Halimah, 2010).

c. Uji Saponin

Ekstrak etanol daun alpukat sebanyak 2 ml ditambah 10 ml *aquadest*, dikocok dengan kuat-kuat selama 30 detik. Positif memiliki kandungan saponin jika terbentuk buih stabil selama 30 detik (Marliana dkk., 2005).

d. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol daun alpukat sebanyak 0,5 mg kemudian ditambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml *aquadest* dipanaskan di atas *waterbath* selama 2 menit, dinginkan dan disaring. Filtrat yang didapat digunakan untuk pengujian. Ekstrak daun alpukat sebanyak 10 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi *Mayer* dan terbentuk endapan putih atau kuning. Selanjutnya, diambil 10 tetes ekstrak daun alpukat dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 tetes pereaksi *Bouchardat* sehingga terbentuk endapan coklat sampai hitam. Kemudian 10 tetes ekstrak daun alpukat ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendrof* dan terbentuk endapan jingga sampai merah coklat. Bila sedikitnya 2 dari 3 pereaksi menghasilkan endapan yang sama maka positif mengandung alkaloid (Sentat dkk., 2015).

Serilisasi Alat

Sterilisasi alat yang dilakukan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi dibungkus dengan kertas payung dan plastik kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Sterilisasi peralatan yang lain adalah jarum ose, disterilkan dengan dibakar langsung pada api bunsen. Media pertumbuhan bakteri disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Mpila dkk., 2012).

Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrient Agar* (NA). Serbuk NA sebanyak 19,5 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan 500 ml *aquadest* steril kemudian dididihkan. Media bakteri kemudian ditutup menggunakan kertas alumunium foil, selanjutnya disterilkan di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media yang sudah steril dituang pada cawan petri steril sejumlah 20 ml, selanjutnya media bakteri ditunggu sampai padat pada suhu ruangan (Tandah, 2016).

Pembiakan Suspensi Bakteri

Hasil biakan bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* diambil dengan kawat ose steril kemudian disuspensikan ke tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9% kemudian kekeruhannya disamakan dengan standar *Mc. Farland* 0,5 (10⁸ koloni/mL) (Mpila dkk., 2012 dan Kursia dkk., 2016).

Penyiapan larutan uji

Larutan uji dibuat dari ekstrak etanol 70% daun alpukat dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Larutan kontrol negatif adalah *aquadest* steril. Larutan kontrol positif dibuat menggunakan larutan siprofloksasin, serta kontrol pelarut ekstraksi, yaitu etanol 70%.

Pembuatan Larutan Pembanding

Kontrol positif adalah larutan siprofloksasin dengan konsentrasi 5µg/disk (Budiana dkk., 2015).

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. *Cotton bud* steril dimasukkan ke suspensi bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* yang kekeruhannya sudah sama dengan *Mc Farland*, lalu didiamkan sampai cairan meresap ke dalam *cotton bud* steril. *Cotton bud* steril kemudian diangkat dan diperas dengan ditekankan pada dinding tabung dalam sambil diputar-putar. *Cotton bud* steril digoreskan secara rapat pada permukaan media NA. Media NA didiamkan 5-15 menit agar suspensi bakteri meresap ke media NA (Soemarno, 2000). Zat uji sebanyak 20 μl kemudian diteteskan di atas kertas cakram menggunakan mikropipet, kertas cakram diletakkan di atas media NA. Cawan petri dimasukkan dalam inkubator untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri *S. typhi* dan *S. aureus* diamati berdasarkan zona bening disekitar kertas cakram. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam milimeter (Amiruddin, 2014 dan Rizqina, 2014).

Analisis Data

Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri berdasarkan parameter nilai zona bening dikategorikan resisten, intermediet dan sensitif berdasarkan *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2013), serta dianalisis menggunakan uji *One Way Anova* dengan program SPSS 23 *for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Daun Alpukat

Ekstraksi daun alpukat dilakukan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena tidak menggunakan panas, sehingga metabolit sekunder tidak rusak serta proses pengerjaan mudah dengan peralatan yang sederhana (Prestianti, 2017). Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut bertujuan untuk menarik senyawa seperti flavonoid, karena etanol 70% merupakan pelarut universal yang dengan baik melarutkan senyawa kimia dalam tumbuhan baik senyawa polar maupun nonpolar. Selain itu, etanol 70% efektif menghasilkan jumlah zat aktif yang optimal dan dapat diperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Soemarie dkk.,2016).

Ekstrak kental yang diperoleh adalah 34,12 gram. Hasil rendemen ekstrak etanol daun alpukat yang diperoleh sebesar 11,76%. Ekstrak etanol daun alpukat berbentuk ekstrak kental dengan warna coklat kehitaman.

Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun alpukat yang dilakukan meliputi, uji kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin dengan melihat reaksi uji warna menggunakan pereaksi warna (Kristianti dkk, 2008). Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun alpukat dapat dilihat pada tabel I.

Berdasarkan tabel I, uji alkaloid dengan pereaksi *Mayer* menghasilkan hasil positif, yaitu endapan yang berwarna putih. Uji alkaloid dengan pereaksi *Bouchardat* menunjukkan hasil positif, yaitu endapan berwarna coklat. Berdasarkan pereaksi *Mayer* dan *Bouchardat* kedua pengujian menunjukkan adanya kandungan alkaloid dalam ekstrak etanol daun alpukat (Sentat dkk., 2015).

	Tabel I. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat				
No	Pengujian	Hasil	Keterangan		
1	Alkaloid				
	a. Pereaksi <i>Mayer</i>	+	Endapan putih kekuningan		
	b. Pereaksi Bouchardat	+	Endapan coklat kehitaman		
2	Flavonoid	+	Kuning		
3	Tanin	+	Hijau kehitaman		
4	Sanonin	+	Terhentuk husa		

Keterangan:

+ : mengandung metabolit sekunder : tidak mengandung metabolit sekunder

Senyawa flavonoid dapat diidentifikasi dalam suasana asam atau basa. Uji kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun alpukat menggunakan pereaksi bersifat basa, yaitu ditambahkan NaOH 10%, hasil menunjukkan warna kuning. Hal ini dikarenakan flavonoid termasuk senyawa fenol yang apabila direaksikan dengan basa akan terbentuk warna kuning yang disebabkan terjadinya sistem konjugasi dari gugus aromatik (Mailuhu dkk., 2017; Kusnadi dan Devi, 2017).

Uji kandungan tanin pada ekstrak etanol daun alpukat menggunakan pereaksi FeCl₃ 1% menghasilkan warna hitam hijau kehitaman. Hal ini sesuai dengan penelitian Halimah (2010), adanya kandungan tanin ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman. Uji kandungan saponin pada ekstrak etanol daun alpukat menunjukkan hasil yang positif. Kandungan saponin dalam ekstrak daun alpukat ditandai dengan terbentuknya buih atau busa yang stabil dengan tinggi 2 cm. Senyawa saponin saat dikocok terbentuk buih atau busa karena gugus hidrofil berikatan dengan air dan gugus hidrofob berikatan dengan udara (Simaremare, 2014).

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun alpukat positif memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Penelitian yang dilakukan Charyadie (2014) dan Sentat dkk., (2015) melaporkan bahwa ekstrak daun alpukat memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, saponin, tanin dan flayonoid.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat Terhadap Bakteri S.typi dan S. aureus

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun alpukat dilakukan terhadap bakteri S.typi dan S. aureus menggunakan metode difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba berdasarkan potensi difusi dari zat antimikroba pada media agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji (Brooks dkk., 2007). Metode difusi cakram dilakukan menggunakan kertas cakram berdiameter ±6 mm sebagai wadah untuk menampung senyawa zat uji yang diletakkan di permukaan agar yang sebelumnya telah diinokulasikan mikroorganisme uji. Selanjutnya diinkubasi pada waktu 24 jam dan suhu 37°C Senyawa yang diuji akan berdifusi ke media agar, sehingga mengakibatkan adanya hambatan dalam pertumbuhan mikroorganisme (Hariana, 2007 dan Choma dkk., 2010).

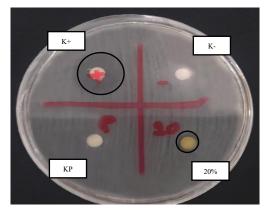
Parameter dalam uji antibakteri menggunakan metode difusi cakram adalah terbentuknya area jernih atau zona bening disekitar kertas cakram. Terbentuknya zona bening menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba di permukaan media agar (Jahari, 2013).

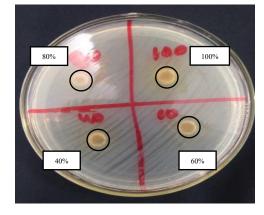
Media agar yang digunakan dalam uji antibakteri adalah media NA steril sebanyak 20 ml dituang ke dalam cawan petri, kemudian dibiarkan memadat. Suspensi bakteri S. typi dan S. aureus yang telah setara kekeruhannya dengan Mc. Farland diambil kemudian digoreskan di permukaan media NA menggunakan. Persamaan kekeruhan suspensi bakteri dengan Mc. Farland bertujuan agar mudah memperhitungkan bakteri, serta memperkirakan kepadatan sel yang digunakan pada prosedur pengujian antibakteri (Sutton, 2011).

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik siprofloksasin. Siprofloksasin merupakan antibiotik yang memiliki mekanisme kerja spektrum luas digunakan untuk bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Siprofloksasin yang digunakan sebagai kontrol positif adalah larutan siprofloksasin konsentrasi 5ug/disk. Siprofloksasin merupakan antibiotik pilihan terbaik terhadap bakteri S.typhi (CLSI, 2013). Mekanisme kerja siprofloksasin sebagai antibakteri, yaitu dengan mengganggu enzim DNA topoisomerase dalam sintesa DNA bakteri sehingga sel bakteri tidak terbentuk (Fauzia dkk., 2005).

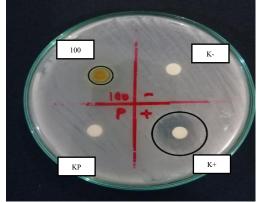
Kontrol negatif yang digunakan aquadest steril, sedangkan kontrol pelarut etanol 70%. Kedua kontrol tersebut berfungsi untuk melihat aktivitas antibakteri dari pelarut terhadap pertumbuhan bakteri S. typi dan S.aureus (Tiran dkk., 2014).

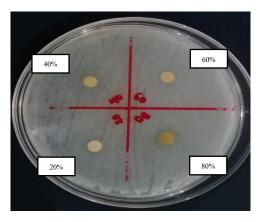
Kelompok perlakuan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat dilakukan pada konsentrasi yang sama yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Zona bening yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri *S.typi* dan *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 1.





S. typi





S. aureus

Gambar 1. Zona hambat uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri S.typi dan S.aureus

Keterangan:

100% 20% : Larutan ekstrak daun alpukat konsentrasi 20% : Larutan ekstrak daun alpukat konsentrasi 100% 40% : Larutan ekstrak daun alpukat konsentrasi 40% K+ : Kontrol positif (Siprofloksasin 5 µg/disk) 60% : Larutan ekstrak daun alpukat konsentrasi 60% KP : Kontrol pelarut (Etanol 70%) 80% : Larutan ekstrak daun alpukat konsentrasi 80% K-: Kontrol negatif (*Aquadest* steril)

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap *S.typi* dan *S.aureus* dapat dilihat pada tabel II.

Tabel II. Diameter hambat ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri *S.typi* dan *S.aureus*

Valammak	Diameter Daerah Hambat rata-rata±SD (mm)		
Kelompok	S. typi	S.aureus	
Konsentrasi ekstrak 20%	$8,50 \pm 0,38^*)$	0 ± 0	
Konsentrasi ekstrak 40%	$7,45\pm1,03^{*)abc}$	0 ± 0	
Konsentrasi ekstrak 60%	$9,35 \pm 0,20^{*)a}$	0 ± 0	
Konsentrasi ekstrak 80%	$9,23 \pm 0,08^{*)b}$	0 ± 0	
Konsentrasi ekstrak 100%	$9,44 \pm 0,36^{*)c}$	$10,68 \pm 0,43$	
Kontrol positif (siprofloksasin)	$25,92 \pm 0,30^*$	$26,10 \pm 0,20$	
Kontrol negatif (aquadest steril)	$0\pm0,\!00^{*)}$	0 ± 0	
Kontrol pelarut (etanol 70%)	$0\pm0,\!00^{*)}$	0 ± 0	

Keterangan:

Superscript huruf yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan p<0,05

^{*)} Terdapat perbedaan signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol p<0,05

Hasil penelitian yang terlihat pada tabel II, kontrol positif siprofloksasin berdasarkan parameter diameter zona hambat dalam CLSI (2013) memiliki rata-rata diameter hambat sebesar 26,10 mm terhadap bakteri *S. aureus* termasuk kategori sensitif, sedangkan pada bakteri *S. typi* memiliki rata-rata diameter hambat sebesar 25,92 mm termasuk kategori intermediet. CLSI (2013) menyebutkan bahwa spesies *Staphylococcus* dengan diameter hambat ≥ 21 mm termasuk dalam kategori sensitif, *S. typi* 21-30 mm termasuk dalam kategori intermediet. *Aquadest* steril yang digunakan sebagai kontrol negatif (-) menunjukkan dan etanol sebagai kontrol pelarut menunjukkan tidak adanya zona hambat di sekitar cakram, hal ini menunjukkan bahwa *aquadest* steril dan etanol tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Hasil pengujian ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri *S. aureus* konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% tidak menunjukkan adanya zona hambat. Zona hambat hanya terdapat pada ekstrak etanol daun alpukat konsentrasi 100% sebesar $10,68 \pm 0,43$ mm. Rastina dkk. (2017) melaporkan bahwa kemampuan antimikroba dalam menghambat mikroorganisme tergantung pada konsentrasi antimikroba dan jenis antimikroba. Semakin tinggi konsentrasi suatu antimikroba, maka zona bening yang terbentuk semakin besar. Semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba, maka zat aktif yang terkandung didalamnya semakin banyak, sehingga efektivitas dalam menghambat bakteri akan semakin meningkat dan membentuk zona bening yang lebih luas. Sebaliknya, pada konsentrasi kecil zat antimikroba yang terdapat di dalam suatu bahan antimikroba akan semakin sedikit, sehingga aktivitasnya akan menurun (Pratiwi, 2016).

Berdasarkan CLSI (2013) ekstrak etanol daun alpukat dengan konsentrasi 100% memiliki rata-rata diameter hambat 10,68 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan termasuk kategori resisten karena zona hambat yang terbentuk ≤ 15 mm, sedangkan pada bakteri *S. typi* memiliki rata-rata diameter hambat pada konsentrasi 20% adalah 8,50 mm; 40% adalah 7,45 mm; 60% adalah 9,35 mm; 80% adalah 9,23 mm dan 100% adalah 9,44 mm. Zona hambat ekstrak etanol daun alpukat pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% termasuk dalam kategori resisten karena zona hambat yang terbentuk ≤ 20 mm.

Hasil analisis statistik untuk mengetahui perbedaan zona hambat ekstrak etanol daun alpukat dan kontrol positif terhadap bakteri *S.typi* menunjukkan adanya perbedaan bermakna (p<0,05) berdasarkan diameter zona hambat pada setiap konsentrasi dan kontrol positif siprofloksasin. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dan pemberian siprofloksasin terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *S.typhi*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yusliana dkk. (2019) siprofloksasin sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 5µg dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.typi* dengan zona hambat sebesar 24,3 mm.

Pengujian *Post Hoc Tukey* perbandingan ekstrak etanol daun alpukat konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna (p>0,05). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki efek yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. typi*. Sedangkan, ekstrak etanol daun alpukat konsentrasi 60%, 80%, dan 100% memiliki perbedaan bermakna (p<0,05) terhadap konsentrasi 40%. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 40% memiliki efek antibakteri yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan konsentrasi 60%, 80%, dan 100%. Pengujian *Post Hoc Tukey* ekstrak etanol daun alpukat dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan kontrol positif siprofloksasin menunjukkan adanya perbedaan bermakna (p<0,05). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat menunjukan adanya potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.typhi*, tetapi tidak sebanding dengan siprofloksasin dalam kemampuan menghambat pertumbuhan *S.typhi*.

Aktivitas antibakteri yang terkandung dalam ekstrak etanol daun alpukat dikarenakan adanya senyawa antibakteri, yaitu saponin, tanin dan flavonoid (kuersetin) (Ogundare dan Oladejo, 2014). Karlina dkk. (2013) melaporkan bahwa saponin dapat menekan pertumbuhan bakteri dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan berinteraksi dengan dinding sel bakteri sehingga lisis. Kandungan tanin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan mekanisme menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk., 2009). Kuersetin yang merupakan golongan flavonol memiliki aktivitas antibakteri karena adanya gugus fenol yang dapat mengkoagulasi protein dengan menonaktifkan enzim-enzim dan mengganggu dinding sel dan bersifat bakterisida (Katzung, 2004). Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak dinding sel melalui komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Rachmawati dkk., 2009).

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol daun alpukat konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap bakteri *S.typi* dan konsentrasi 100% terhadap bakteri *S.aureus* memiliki zona bening yang lebih kecil dibandingkan zona bening kontrol positif siprofloksasin. Berdasarkan CLSI (2013), zona bening yang terbentuk pada kelompok perlakukan ekstrak etanol daun alpukat termasuk kategori resisten terhadap

bakteri *S.typi* dan *S. aureus*, namun dalam hasil penelitian masih memiliki zona bening disekitar cakram. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun alpukat memiliki aktivitas antibakteri, tetapi potensinya sebagai antibakteri tidak sebanding dengan antibiotik siprofloksasin. Penelitian lain menyebutkan bahwa, perasan daun alpukat dengan konsentrasi yang sama memiliki aktivitas antibakteri yang sebanding dengan antibiotik siprofloksasin (Hasbi, 2012).

Zona hambat bakteri yang kecil dapat dipengaruhi oleh proses pemanasan saat pembuatan ekstrak dikarenakan terdapat senyawa golongan fenol dalam ekstrak etanol daun alpukat yang bersifat termolabil. Senyawa fenol yang berfungsi sebagai antibakteri akan rusak jika dipanaskan dalam waktu yang lama dengan menunjukkan adanya reaksi perubahan warna pada ekstrak etanol daun alpukat (Khoddami dkk., 2013 dan Sidabutar, 2018)

Pengujian aktivitas antibakteri perlu dilakukan lebih lanjut dengan metode ekstraksi yang berbeda dan pemeriksaan senyawa aktif yang lebih spesifik karena sifat senyawa aktif yang banyak terkandung dalam daun alpukat merupakan senyawa golongan fenol berupa alkaloid, flavonoid dan tanin yang memiliki sifat termolabil dan memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap *S. typhi* dan *S. aureus* (Khoddami dkk., 2013 dan Sidabutar, 2018).

KESIMPULAN

- 1. Ekstrak etanol daun alpukat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri S.typi dan S.aureus
- 2. Ekstrak etanol daun alpukat memiliki potensi yang tidak sebanding dengan siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.typi* dan *S.aureus*

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih ditujukan kepada Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amiruddin, H.S. 2014. Daya Hambat Ekstrak Bawang Putih (Allium sativum) terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans secara In Vitro. Skripsi. Makassar: Universitas Hasanuddin Fakultas Kedokteran Gigi.
- Anggorowati, D. A., Priandini, G., dan Thufail. 2016. Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Miller) sebagai Minuman Teh Herbal yang Kaya Antioksidan. *Industri Inovatif*, 6 (1): 1-7.
- Arif, H., 2013. Tanaman Obat dan Khasiatnya. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Charyadie, F.L., Adi S., dan Sari R.P., 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Laporan Penelitian*, 8 (1).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. 33(1).
- Choma, I. M., Edyta, M., Grzelak. 2010. Bioautography Detection in Thin Layer Chromatography. *Journal of Chromatography*. 1218(19): 2684-2691
- Budiana, S. M., Kojong, N. S., Wewengkang, D. S., 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga dan Biji Tanaman Pacar air (Impatiens balsamina L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa dan Escherichia coli secara In Vitro. Jurnal Ilmiah Farmasi, UNSRAT. 4(4).
- Fauziah, W., Sofyan, L., 2005. Pemeriksaan Potensi Tablet Ciprofloxacin yang Beredar di Apotek Kota Medan dengan Metode Pengenceran. *Majalah Kedokteran Nusantara*. 38(4): 302-304.
- Hasbi, S., 2012. Uji Sensitivitas Perasan Daun Alpokat (*Persea americana* miller) Terhadap *Pseudomonas sp* Metode In Vitro. Aceh: Akademi Analis Kesehatan Banda Aceh.
- Hariana, A., 2007. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3. Jakarta : Penebar Swadaya. 86-87.
- Jahari, F., 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangkokan *(Nothopanax Scutellarium Merr)*Terhadap Bakteri Penyebab Bau Badan dengan Metode Difusi Agar. *Skripsi*. Makassar : Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Karlina C.Y., Ibrahim M., Trimulyono G. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *E journal UNESA Lentera Bio*. 2 (1):87–93.

- Khoddami, A., Wilkes, M.A., dan Roberts, T.H., 2013. *Thecnique for analysis of plant Phenolic Compound. Molecules.* 18. 2328-2375.
- Kristianti, A. N, N. S., Aminah, M., Tanjung dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan Kimia Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Airlangga. P.47-48.
- Kursia, S., Julianri, S. L., Burhanuddin T., Asril, B., Wa, O.R. R., Nursamsiar. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.,) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology.* Makassar: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi dan Akademi Farmasi Kebangsaan Sulawesi Selatan. 3(2): 72-77.
- Kusnadi, K., dan Devi, E., 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*, 2(9), 56.
- Indang N., Guli M.M., Alwi M., 2013. Uji Resistensi dan Sensitivitas Bakteri *Salmonella thypi* Pada Orang Yang Sudah Pernah Menderita Demam Tifoid Terhadap Antibiotik. *Jurrnal Biocelebes*, 7(1): 27–34.
- Kartika, A.M dan Arsito, P.N, 2017. Uji Aktivitas Fraksi Etanol Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Naskah Publikasi Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Mailuhu, M., Max R.J.R., Harry S.J.K., 2017. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). *Chem. Prog.* 10 (1).
- Marliana, S.D., Suryanti, V. dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz) dalam Ekstrak Etanol. Jurnal Biofarmasi. 3 (1):26-31.
- Mpila, D.A., Fatimawali dan Wiyono, W.I, 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Etanol Daun Mayana (Coleus atropurpureus [L] Benth) Terhadap Staphylococcus aureus, Eschericia coli dan Pseudomonas aeruginosa Secara In-Vitro. Skripsi. Manado: Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi.
- Nuria M.C., Arvin, F., dan Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha Curcas L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus ATCC 25923, Escherichia Coli ATCC 25922, Dan Salmonella Typhi ATCc 1408. Mediagro5(2):26–37.
- Ogundare A. O. dan Oladejo B. O. 2014. Antibacterial Activities of the Leaf and Bark Extract of *Persea americana*. *American Journal of Ethnomedicine*. 1 (1); 064-071.
- Pratiwi S., 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cincau Hijau Rambat (*Cyclea barbata* Miers.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Bacillus cereus* dan *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro Dengan Metode Difusi. *Skripsi*. Jakarta: Universitas Pembangunan Nasional "Veteran".
- Prestianti, I., 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Kolaka terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus, Escherichia Coli* dan *Pseudomonas Aeruginosa*. Skripsi. Makassar: Universitas Negeri Alauddin.
- Radji, M., 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahayu E.U., 2011. Antibiotika, Resistensi Dan Rasionalitas Terapi. *El-Hayah*. 1(4): 191–198.
- Rachmawati, J.F., Dewa, A.C., Bunga, N., Titis, N., Endarwati, T.B., 2009 Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran Indonesia*. 12(1):6-12.
- Rastina, S. M., Wientarsih, I., 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9(2): 185-188.
- Rizqina, N., 2014. Uji Efektivitas Antibakteri Infusum Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* Linn.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Penyebab Karies *Sreptococcus mutans* Secara In Vitro. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Salim, H.H.U., 2016. Pengaruh Aktivitas Antimikroba Ekstrak Bawang Putih (*Allium Sativum*) Terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) Dan Gram Negatif (*Escherichia coli*) Secara In Vitro. *Skripsi*. Lampung: Universitas Lampung.
- Sarinastiti, N., 2018. Perbandingan Efektivitas Ekstrak Daun Alpukat dan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Skripsi*. Lampung: Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.

- Sharif, M.D.M., dan Banik. 2006. Gr. Status And Utilization Of Medical Plants In Rangamati Of Bangladesh. *Research Journal and Biological Sciences*.2(6):268-273.
- Soemari, Yulistia B., Tri A., Nur R., 2016. Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Sebagai Antiacne. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2(2):224-232.
- Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta. Yogyakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 116-7.
- Sentat, T., Rizki P., 2015. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Punggung Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2):100-106.
- Sidabutar, R., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) Terhadap Staphylococcus aureus Dan Salmonella typhi Dengan Metode Difusi Agar. Skripsi. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Simaremare, Eva S., 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*. 11(1).
- Sutton, S. 2011. Determination of Inoculum for Microbiological Testing. Summer. 15 (3): 49-53.
- Tandah, M.R., 2016. Daya Hambat Decokta Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli. Jurnal Kesehatan Tadulako*. 2(1):1-75.
- Tiran F.A., Christofori, M.R.R., Nastiti., 2014. Aktivitas Antibakteri *Lotion* Minyak Kayu Manis terhadap *Staphylococcus epidermidis* Penyebab Bau Kaki, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. 11(2): 72-80.
- Yusliana, Sarwendah, Heronimus C. G.L., Pieter J.D., Linda C., 2019. Uji Daya Hambat Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* L.Merr Var. Queen) Terhadap Bakteri Salmonell typi. *Scientia Journal*. 8(1): 1-9.