

**EKSPLORASI UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
ANTIBAKTERI DAUN ALPUKAT (*PERSEA AMERICANA* MILL.) :
EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *ULTRASONIC ASSISTED
EXTRACTION***

(Skripsi)

Oleh
ELMIRA RAHMADHITA
2018031039



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**EKSPLORASI UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN
ANTIBAKTERI DAUN ALPUKAT (*PERSEA AMERICANA*
MILL.) : EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *ULTRASONIC*
*ASSISTED EXTRACTION***

**Oleh
ELMIRA RAHMADHITA**

**Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**

Pada

**Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

: **EKSPLORASI UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI
DAUN ALPUKAT (*Persea americana*
Mill.) : EKSTRAKSI MENGGUNAKAN
ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION**

Nama Mahasiswa

: **Elmira Rahmadhita**

No. Pokok Mahasiswa

: 2018031039

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing

apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.
NIP 198612052022031003

apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm
NIP 198710232024211001

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran



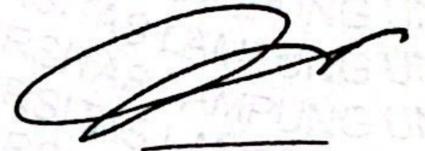
Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc
NIP 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

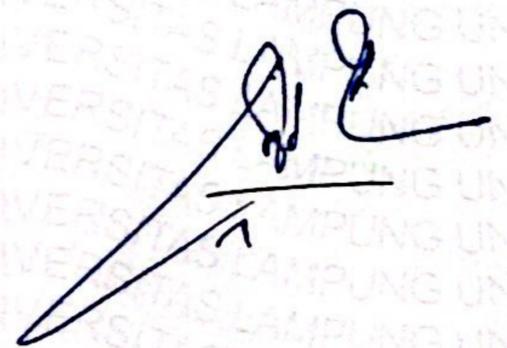
Ketua

: apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc



Sekretaris

: apt. Zulpakor Oktoba S.Si., M.Farm



Penguji

Bukan Pembimbing : apt. Nurmasuri, S.Farm., M.Biomed.Sc.MKM



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Karniawaty, M.Sc
NIP-197601202003122001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Agustus 2024

LEMBAR PENGESAHAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

Skripsi dengan judul **“EKSPLOKASI UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) : EKSTRAKSI MENGGUNAKAN *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarism. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 31 Juli 2024

Pembuat Pernyataan



Elmira Rahmadhita
NPM. 2018031039

RIWAYAT HIDUP

Elmira Rahmadhita lahir di Bandar Lampung pada tanggal 09 April 2002. Penulis lahir dari pasangan Bapak Hartadi dan Ibu Nurfitri. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara yakni, Patria Ardhi Nugraha, Dwitya Rama Arfiandri, dan Rangga Arief Nur. Riwayat pendidikan yang ditempuh oleh penulis sebagai berikut: TKIT Qurrota A'yun Bandar Lampung pada tahun 2006, lalu melanjutkan di SDIT Permata Bunda Bandar Lampung sejak 2008, melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPIT Daarul 'Ilmi Bandar Lampung pada tahun 2014. Kemudian, melanjutkan sekolah menengah atas di SMA N 9 Bandar Lampung pada tahun 2017. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2020.

Penulis menjalani masa perkuliahan dengan aktif dalam beberapa organisasi dan kegiatan. Penulis berkesempatan menjadi juara 1 pada perlombaan film pendek Pharmalation tahun 2021 dan juara 1 perlombaan film pendek tingkat nasional Pharmalation tahun 2022 yang diadakan Farmasi Universitas Lampung. Penulis juga mengikuti organisasi intra kampus yaitu Badan Eksekutif Mahasiswa FK Unila selama 2 tahun sebagai staff dinas Bisnis dan Kemitraan lalu menjadi staff khusus dinas Bisnis dan Kemitraan. Penulis juga mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi Unila selama 1 tahun sebagai kepala bidang bisnis dan 1 tahun sebagai anggota Bisnis dan Kemitraan, Berbagai pengalaman dan penghargaan penulis peroleh selama perkuliahan.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Bismillahirrahmanirrahim

دَ اللَّهُ حَقُّهُ وَلَا يَسْتَخَفُّكَ الَّذِينَ لَا يُؤْقِنُونَ فَاصْبِرْ إِنَّ وَعْدَ ٦

Maka, bersabarlah engkau Sesungguhnya janji Allah itu benar. Jangan sampai orang-orang yang tidak meyakini itu membuat engkau bersedih.

(Q.S Ar-Rum : 60)

“ Bukan kesulitan yang membuat kita takut, tapi sering ketakutanlah yang membuat kita jadi sulit, jadi jangan mudah menyerah “

(Joko Widodo)

"Some people dream of success, while other people get up every morning and make it happen."

(Wayne Huizenga)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang mana telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya. Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW., sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Eksplorasi Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) : Ekstraksi Menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction*”** Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, dorongan, kritik dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan ridho dan karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi dengan baik;
2. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM. sebagai Rektor Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. dr. Rani Himayani Sp.M selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc selaku Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terima kasih atas ilmu, arahan serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini;
6. apt. Zulpakor Oktoba, S.Si., M.Farm selaku Pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terima kasih atas ilmu, arahan serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini;

7. apt. Nurmasuri, S. Farm, M.Biomed.Sc., MKM. selaku Pembahas yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan dorongan kepada penulis. Terima kasih atas ilmu, arahan serta masukan dalam proses penyusunan skripsi ini;
8. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si selaku pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan saran akademik dan nasihat selama masa perkuliahan hingga akhir;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan;
10. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu proses penyusunan skripsi ini;
11. Kedua orang tua yaitu Ibu Nurfitri dan Bapak Hartadi yang selalu menjadi *support system* dalam setiap langkah yang ditempuh oleh penulis. Alhamdulillah kini penulis sudah berada di tahap untuk menyelesaikan karya tulis ini. Terima kasih untuk ibu dan bapak atas dukungan, doa, cinta yang tidak pernah terputus sampai sekarang. Terima kasih sudah mengantarkan penulis sampai di titik ini;
12. Teruntuk ketiga kakak laki-lakiku yaitu Kak Dang, Kak Ngah, dan Kak Tata. Terima kasih atas nasihat dan semangat yang telah diberikan. Terima kasih sudah menjadi panutan penulis untuk selalu berjuang;
13. Kepada orang spesial yaitu Hafiz Hatami yang menjadi salah satu *support system* penulis. Terima kasih untuk selalu membantu, memberi semangat, dan meluangkan waktu untuk penulis. Terima kasih banyak sudah menjadi orang yang selalu mendukung penulis dalam situasi apapun;
14. Untuk sahabat penulis yaitu, Qonita, Diqa, Heni, Rieke, Indy, Mutiara, Angel, dan Visky. Terima kasih sudah menjadi sahabat yang baik dan saling memotivasi untuk menyelesaikan proses skripsi dan menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis;
15. Teman seperjuangan perkuliahan, Intan, Triana, Riefa, Jessy, Farah, Sekar, dan Cyntia. Terima kasih atas dukungan dan bantuan untuk setiap kendala yang dialami oleh penulis selama berkuliah di FK Unila;

16. Untuk Suci Ainu Sella selaku teman yang sudah membantu dan mengajarkan penulis di saat proses penelitian di laboratorium;
17. Farmasi 2020 yang senantiasa berperan penting bagi penulis. Terima kasih atas segala dukungan, motivasi, nasihat dan memberikan warna selama perkuliahan hingga akhir. Begitupun teman-teman Trombosit 2020 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung terima kasih atas kebersamaannya selama ini;
18. Keluarga Himafarsi Unila, khususnya Departemen Bisnis dan Kemitraan yang telah menjadi keluarga, tempat tumbuh dan belajar untuk mengembangkan diri;
19. BEM FK Unila, terima kasih telah mengajarkan penulis untuk bisa menjadi pribadi yang selalu ingin bertumbuh, membangun relasi, dan meningkatkan kualitas diri;
20. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini;
21. Terakhir, untuk Elmira Rahmadhita yaitu Diri saya sendiri. Apresiasi sebesar-besarnya karna bisa menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih karna sudah bisa bertahan di titik ini dan terus berusaha meghadapi rintangan yang ada. Terima kasih karna tidak menyerah dengan keadaan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, karena sejatinya kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran kedepannya. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak orang dan dapat menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, 31 Juli 2024

Penulis,

Elmira Rahmadhita

ABSTRACT

EXPLORATION OF ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES TESTS OF AVOCADO LEAF ETHANOL EXTRACT (*Persea americana* Mill.): EXTRACTION USING ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

By

Elmira Rahmadhita

Background: One of the cases in Indonesia was contaminated by pathogenic bacteria, namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* which require more effective treatment to cure. The relationship between antioxidants and antibacterials is due to the secondary metabolite compounds contained in avocado leaves (*Persea americana* Mill.) extracted using the sonication method, which has antioxidant content and can inhibit the growth of microbes that cause infections.

Methods: The research was conducted on avocado leaves extracted using the sonication method and tested for antioxidant activity and antibacterial test with antioxidant concentrations of 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm and antibacterial 10%, 20%, 40%, and 80% against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Result: The research results showed that the ethanol extract of avocado leaves (*Persea americana* Mill.) was identified antioxidant activity because the IC₅₀ value was 81.67 ppm which means it has high antioxidant activity. The antibacterial test of ethanol extract of avocado leaves (*Persea americana* Mill.) against *Staphylococcus aureus* yielded the best antibacterial activity at a concentration of 80% with an average diameter of the inhibition zone of 52.22 mm and didn't show inhibition zone against *Escherichia coli* bacteria.

Conclusion: The ethanol extract of avocado leaves (*Persea americana* Mill.) yielded high antioxidant activity. The antibacterial activity was observed in the ethanol extract of avocado leaves (*Persea americana* Mill.) against *Staphylococcus aureus* and unidentified antibacterial activity against *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: *Persea americana* Mill., Antioxidant, Antibacterial, Extraction, Ultrasonic Assisted Extraction.

ABSTRAK

EKSPLORASI UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI ESTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) : EKSTRAKSI MENGUNAKAN *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION*

Oleh
Elmira Rahmadhita

Latar Belakang: Adanya bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* membutuhkan pengobatan yang lebih efektif untuk penyembuhannya. Adanya hubungan antioksidan dan antibakteri dikarenakan memiliki senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang diekstraksi menggunakan metode sonikasi memiliki kandungan antioksidan dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba penyebab infeksi.

Metode: Penelitian dilakukan pada daun alpukat yang diekstraksi dengan metode sonikasi dan diuji aktivitas antioksidannya dan uji antibakterinya dengan konsentrasi antioksidan 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm dan antibakteri 10%, 20%, 40%, dan 80% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) telah teridentifikasi memiliki aktivitas antioksidan karena memiliki nilai IC_{50} yaitu 81,67 ppm yang artinya memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Uji antibakteri ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan aktivitas antibakteri yang terbaik pada konsentrasi 80% dengan rata-rata diameter zona hambat yaitu 52,22 mm dan tidak terlihat adanya daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kesimpulan: Ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Aktivitas antibakteri yang diamati pada ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan tidak teridentifikasi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci: *Persea americana* Mill., Antioksidan, Antibakteri, Ekstraksi, *Ultrasonic Assisted Extraction*.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	ii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Peneliti Lain.....	5
1.4.3 Bagi Institusi.....	5
1.4.4 Bagi Masyarakat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	6
2.1.1 Taksonomi	6
2.1.2 Habitat	7
2.1.3 Anatomi dan Morfologi Tumbuhan Alpukat.....	7
2.1.3.1 Kandungan Daun Alpukat	7
2.1.3.2 Manfaat Daun Alpukat.....	8
2.2 Antioksidan.....	9
2.3 Antibakteri.....	10
2.4 <i>Escherichia coli</i>	12

2.4.1 Definisi	12
2.4.2 Taksonomi	13
2.4.3 Morfologi	14
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.5.1 Klasifikasi	15
2.5.2 Taksonomi <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.5.3 Sifat dan Morfologi	15
2.5.4 Peremajaan bakteri	17
2.5.5 Daya Tahan Bakteri	18
2.6 Ekstraksi	19
2.7 Senyawa Metabolit Sekunder	23
2.8 Kerangka Penelitian	24
2.9.1. Kerangka Teori	24
2.9.2. Kerangka Konsep	24
2.9.3. Hipotesis	25

BAB III METODOLOGI PENELITIAN 26

3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.2.1 Tempat Penelitian	26
3.2.2 Waktu Penelitian	27
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.3.1 Alat Penelitian	27
3.3.2 Bahan Penelitian	27
3.4 Variabel Penelitian	28
3.4.1 Variabel Bebas	28
3.4.2 Variabel Terikat	28
3.5 Prosedur Penelitian	28
3.5.1 Pengambilan Sampel	28
3.5.2 Determinasi Tanaman	28
3.5.3 Persiapan Sampel	29
3.5.4 Pembuatan Ekstrak	29
3.5.5 Uji Penapisan Fitokimia	29
3.5.6 Uji Aktivitas Antioksidan	31
3.5.7 Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran	32
3.6 Diagram Alur Penelitian	34
3.6.1 Pengukuran Aktivitas Antioksidan	34
3.6.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri	34

3.7 Analisis Data	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1 Hasil	36
4.1.1 Persetujuan Etik	36
4.1.2 Determinasi Tanaman	36
4.1.3 Simplisia	36
4.1.4 Ekstraksi	36
4.1.5 Hasil Uji Penapisan Fitokimia	37
4.1.6 Antioksidan.....	38
4.1.7 Antibakteri.....	40
4.2 Pembahasan	44
4.2.1 Determinasi Tanaman	44
4.2.2 Ekstraksi.....	44
4.2.3 Uji Penapisan Fitokimia	47
4.2.4 Uji Antioksidan.....	48
4.2.5 Uji Antibakteri	49
BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	57
5.1 Simpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi Kekuatan Antioksidan.....	31
Tabel 2. Konsentrasi Masing-masing Sampel Uji Aktivitas Antibakteri	33
Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Alpukat	36
Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Etanol Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	37
Tabel 5. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat	37
Tabel 6. Hasil IC ₅₀ dari asam askorbat dan ekstrak etanol daun alpukat	38
Tabel 7. Hasil Pengamatan <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Tabel 8. Kategori Diameter Zona Hambat	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)	7
Gambar 2. Bakteri <i>E. coli</i> pada Pewarnaan Gram dengan Perbesaran 100x.....	14
Gambar 3. Pewarnaan gram menunjukkan <i>S. aureus</i> bersifat gram positif, berbentuk kokus dengan berpasangan, tetrad, dan kluster perbesaran 1000x.....	17
Gambar 4. Koloni bakteri <i>S. aureus</i> pada blood agar plate setelah inkubasi 24 jam.	18
Gambar 5. <i>Ultrasonic probe</i>	21
Gambar 6. <i>Ultrasonic water bath</i>	21
Gambar 7. Kerangka Teori	24
Gambar 8. Kerangka Konsep.....	24
Gambar 9. Bagan Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	34
Gambar 10. Bagan Pengujian Aktivitas Antibakteri	34
Gambar 11. Presentase % inhibisi vitamin c uji dilakukan dengan 3x pengulangan.....	39
Gambar 12. Presentase hasil daun alpukat terhadap DPPH. Uji menggunakan konsentrasi (20, 40, 60, 80, 100 ppm). Uji dilakukan dengan 3x pengulangan.....	39
Gambar 13. Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pengulangan 1	41
Gambar 14. Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pengulangan 2.....	41
Gambar 15. Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pengulangan 3.....	42
Gambar 16. Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri	

	<i>Esherichia coli</i> pengulangan 1	42
Gambar 17.	Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri <i>Esherichia coli</i> pengulangan 2	43
Gambar 18.	Pengujian antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri <i>Esherichia coli</i> pengulangan 2	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik	63
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi Tanaman	64
Lampiran 3. Surat Keterangan Telah Melaksanakan Penelitian di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Bandar Lampung	66
Lampiran 4. Diagram Penelitian	67
Lampiran 5. Proses Pembuatan Simplisia	70
Lampiran 6. Proses Ekstraksi Daun Alpukat (<i>Persea americana Mill.</i>) Menggunakan Metode <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>	71
Lampiran 7. Hasil Skrinning Fitokimia	72
Lampiran 8. Uji Aktivitas Antioksidan	73
Lampiran 9. Uji Aktivitas Antibakteri	74
Lampiran 10. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	75
Lampiran 11. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat bakteri <i>Escherichia</i> <i>coli</i>	76
Lampiran 12. Hasil Pengukuran Absorbansi Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> <i>Mill.</i>) Pengulangan 1 dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm	77
Lampiran 13. Hasil Pengukuran Absorbansi Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> <i>Mill.</i>) Pengulangan 1 dengan konsentrasi 100 ppm dan kontrol positif	78
Lampiran 14. Hasil Pengukuran Absorbansi Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> <i>Mill.</i>) Pengulangan 2 dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm	79
Lampiran 15. Hasil Pengukuran Absorbansi Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> <i>Mill.</i>) Pengulangan 2 dengan konsentrasi 100 ppm dan kontrol	

positif	80
Lampiran 16. Hasil Pengukuran Absorbansi Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> <i>Mill.</i>) Pengulangan 3 dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm	81
Lampiran 16. Hasil Pengukuran Absorbansi Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> <i>Mill.</i>) Pengulangan 3 dengan konsentrasi 100 ppm dan kontrol positif	82
Lampiran 18. Data absorbansi sampel, % inhibisi, dan IC ₅₀ dari ekstrak etanol daun alpukat	83

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu kasus pangan di Indonesia yaitu kasus mengenai pangan yang beracun karena telah terkontaminasi oleh bakteri patogen yang kemudian dapat tumbuh dan berkembang biak selama penyimpanan, sehingga bakteri tersebut mampu memproduksi toksin yang berbahaya bagi manusia. Bakteri yang terkait dengan keracunan makanan diantaranya adalah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* patogen pertama kali teridentifikasi pada tahun 1935 sebagai penyebab diare (Bialystok, 2017) dan *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab penyakit pada kulit, seperti infeksi yang berupa bisul, selulitis, impetigo dan juga dapat meningkatnya jumlah infeksi, penyakit, dan kematian (Rahman *et al.*, 2018). Sehingga membutuhkan obat yang baik untuk menyembuhkannya. Oleh karena itu, terapi pengobatan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang efektif sangat dibutuhkan.

Antioksidan memiliki hubungan dengan antibakteri. Potensi daun alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai sumber antioksidan alami memiliki hasil penangkapan radikal bebas dan kemampuan mereduksi yang baik (Katja & Suryanto, 2009). Potensi daun alpukat

sebagai antibakteri memiliki potensi sebagai antibakteri dikarenakan terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat bakteri (Wijaya, 2020). Uji aktivitas antibakteri fraksi daun alpukat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya potensi antibakteri pada semua fraksi daun alpukat yang ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar *paper disk* pada biakan bakteri *Escherichia coli* (Sari *et al.*, 2016). Beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa ekstrak dari alpukat mengandung senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan dan antibakteri.

Pemanfaatan keanekaragaman hayati di Indonesia banyak mengkaji pada tanaman yang memiliki efek sebagai antibakteri. Efek antibakteri ditimbulkan oleh tanaman yang mengandung senyawa bioaktif metabolit sekunder di antaranya senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun alpukat dapat menghambat beberapa pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif seperti *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtili*, *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian terdahulu menyatakan alpukat memiliki antioksidan yang baik dan dapat menyembuhkan luka. Diduga mekanisme penyembuhan luka tersebut melalui aktivitas antibakterinya (Silviana & Asri, 2022). Dibuktikan adanya Alpukat yang dijadikan tanaman obat tradisional untuk penyembuhan diare pada kajian etnobotani obat tradisional masyarakat suku batak di Desa Lawe Berbunga, Kecamatan Babul Makmur, Aceh Tenggara (Yanti *et al.*, 2022).

Mengacu pada studi literatur, penelitian tentang daun alpukat secara spesifik hanya sebatas menggunakan metode ekstraksi maserasi dan belum ada penelitian mengenai uji aktivitas antioksidan dan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun alpukat yang ekstraksinya menggunakan metode sonikasi yang di mana sonikasi memiliki keunggulan antara lain ukuran partikel yang kecil dan menghasilkan luas permukaan yang besar sehingga mempercepat penetrasi bahan aktif (Tardos, 2005). Berdasarkan latar belakang diatas, penelitian ini

dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bagaimanakah aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol daun alpukat dengan metode ekstraksi *ultrasonic assisted extraction* sebagai alternatif tanaman herbal pengganti antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil kandungan metabolit sekunder pada daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)?
2. Bagaimanakah potensi antioksidan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)?
3. Bagaimanakah efek aktivitas antibakteri daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui profil kandungan metabolit sekunder pada daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE).
2. Mengetahui potensi antioksidan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE).
3. Mengetahui efek aktivitas antibakteri (*Persea americana* Mill.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan keilmuan bagi peneliti, meningkatkan kemampuan peneliti dalam menganalisis masalah dan sebagai wujud disiplin ilmu dari pengetahuan yang telah dipelajari peneliti.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya dan dapat menjadi dasar pengembangan pengobatan alami berbasis daun alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai alternatif obat antioksidan dan antibakteri.

1.4.3 Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pustaka bagi penelitian yang serupa dan menambah publikasi bagi institusi.

1.4.4 Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber informasi untuk masyarakat mengenai potensi ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai antioksidan dan antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan tanaman obat dari Amerika tengah yang termasuk dalam *family* Lauraceae (Ranade & Thiagarajan, 2015). Tanaman ini telah menyebar dan dapat tumbuh subur di seluruh Negara tropis maupun subtropis, termasuk Indonesia. Buah alpukat termasuk dalam kelompok buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia karena tidak hanya enak rasanya namun juga tinggi akan kandungan antioksidan di dalamnya (Adeyemi *et al.*, 2002). Buah alpukat mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dan antioksidan dan ekstraknyapun mengandung asam oleat berkisar 75,16% dan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan (Alkhalaf *et al.*, 2019).

2.1.1. Taksonomi

Kedudukan tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) dalam sistem taksonomi (klasifikasi) tumbuhan tinggi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Ranales
Famili	: Lauraceae
Genus	: Persea

Spesies : *Persea americana* Mill.
(Plantamor, 2012).



Gambar 1. Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.). (Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Habitat

Tumbuhan alpukat dapat tumbuh di daerah beriklim tropis maupun subtropis dengan curah hujan 1.800-4.500mm/h. Tanaman ini cocok pada iklim sejuk dan basah. Di Indonesia, tumbuhan alpukat dapat tumbuh pada Ketinggian antara 1 - 1.000 m diatas permukaan laut (Pravita, 2012).

2.1.3 Anatomi dan Morfologi Tumbuhan Alpukat

Tumbuhan alpukat memiliki sistem akar tunggal dengan panjang 5-10 cm. Daun berbentuk bulat hingga oval, rata pada bagian tepi dan menggulung ke atas dengan panjang daun 10-20 cm dan lebar 3-10 cm, serta bertekstur halus pada bagian permukaan daun. Bunga berupa bunga majemuk dengan kelamin ganda, berwarna kuning kehijauan dengan bentuk seperti bintang dan terdapat pada ketiak daun pada bagian ranting dalam (Felistiani, 2017). Batang tumbuhan alpukat berwarna coklat, berbentuk bulat dan memanjang berukuran 5-10 cm, dilapisi kulit kayu yang keras serta memiliki banyak cabang pada bagian ranting (Abubakar *et al.*, 2014). Buah tumbuhan alpukat berbentuk oval berukuran 10-20 cm, terdapat bintik ungu pada permukaan kulit luar, daging buah berwarna kuning tua hingga hijau muda (Pradita, 2017). Biji

berupa biji tunggal berbentuk bulat telur hingga oval, berwarna putih dengan diameter 2,5 cm (Yachya & Sulistyowati, 2015).

2.1.3.1 Kandungan Daun Alpukat

Daun alpukat mengandung senyawa kimia yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Senyawa kimia yang terkandung diantaranya saponin, alkaloid, flavonoid, dan tannin (Tengo *et al.*, 2013). Daun alpukat mengandung saponin sebesar 1,29/100 mg, flavonoid sebesar 8,11 mg/100 g, dan tanin sebesar 0,68 mg/100 g. Alpukat merupakan buah bergizi tinggi dengan sejumlah senyawa fitokimia seperti saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, asam folat, asam patogenat, asam oleat, beta- sitosterol, lesitin, niasin, vitamin (B1, B2, B5, C, A, K, E), mineral (fosfor, zat besi, tembaga, kalium, magnesium, zink, glutathione), dan serat (Dalimartha & Adrian, 2013). Buah alpukat mengandung vitamin E dan C ataupun flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas penyebab kanker, serta vitamin A yang berperan melindungi mata dari degenerasi katarak dan makula (Andareto, 2015).

2.1.3.2 Manfaat Daun Alpukat

Daun alpukat memiliki berbagai manfaat untuk pengobatan. Manfaat daun alpukat diantaranya sebagai antioksidan (Asaolu *et al.*, 2010), antihipertensi (Talha *et al.*, 2011), antihiperlipidemia (Kolawole *et al.*, 2012), antidiabetes (Marrero-Faz *et al.*, 2014), antikanker (Mardiyaningsih & Ismiyati, 2014), antibakteri (Ogundare & Oladejo, 2014). Alpukat merupakan buah bergizi tinggi dengan sejumlah senyawa fitokimia seperti saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, asam folat, asam patogenat, asam oleat, beta-sitosterol, lesitin, niasin, vitamin (B1, B2, B5, C, A, K, E), mineral (fosfor, zat besi, tembaga, kalium, magnesium, zink,

glutathione), dan serat (Dalimartha & Adrian, 2013). Menurut Andareto (2015), buah alpukat mengandung vitamin E dan C ataupun flavonoid yang dapat menangkal radikal bebas penyebab kanker, serta vitamin A yang berperan melindungi mata dari degenerasi katarak dan makula.

2.2 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang menetralkan senyawa radikal bebas dan mencegah oksidasi senyawa lain. Kandungan total fenolik, kandungan flavonoid total, dan aktivitas antioksidan pada tanaman yang berbeda (Ibroham *et al.*, 2022). Antioksidan adalah substansi yang dalam konsentrasi rendah sudah dapat menghambat atau menangkal proses oksidasi dan juga merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Vaya & Aviram, 2001; Winarsi, 2007). Antioksidan memiliki berat molekul rendah tetapi mampu melawan reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul atau senyawa yang tidak stabil dan sangat reaktif (Oktoba *et al.*, 2023). Antioksidan dibutuhkan untuk menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas atau menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan biomolekul seperti DNA, protein, dan lipoprotein didalam tubuh yang akhirnya dapat memicu- terjadinya penyakit dan penyakit degeneratif (Alfira, 2014).

Antioksidan dapat bersumber dari zat-zat sintetis atau zat-zat alami hasil isolasi. Adanya antioksidan alami ataupun sintetis dapat menghambat proses oksidasi lipid, mencegah kerusakan, dan perubahan degradasi komponen organik dalam bahan makanan. Antioksidan sintesis yang umum digunakan adalah *butylated hydroxytoluen* (BHT), *butylated hydroxyanisole* (BHA), *teributylhydroxyquinone* (TBHQ), asam galat dan propil galat. Antioksidan alami dapat diperoleh dari sayuran, buah-buahan, kacang-kacangan dan tanaman lainnya yang mengandung antioksidan bervitamin (vitamin A, C, dan

E). Asam-asam fenolat (asam ferulat, asam Klorogerat, asam elagat, dan asam kafeat) dan senyawa flavonoid seperti kuersetin, mirisetin, apigenin, luteolin, dan kaemfenol (Rohdiana, 2001).

Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik contohnya superoksid dismutase, katalase, glutathione peroksidase. Sedangkan antioksidan enzimatik adalah kofaktor enzim antioksidan, penghambat enzim oksidatif, pembentuk khelat logam transisi, dan penangkap radikal bebas (Huang *et al.*, 2005).

Antioksidan adalah substansi yang dalam konsentrasi rendah sudah dapat menghambat atau menangkal proses oksidasi dan juga merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Vaya & Aviram, 2001; Winarsi, 2007). Antioksidan dibutuhkan untuk menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas atau menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan biomolekul seperti DNA, protein, dan lipoprotein didalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit dan penyakit degeneratif (Alfira, 2014).

2.3 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta perusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Ganiswara, 1995).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteristatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Madigan dkk. (2000), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antimikrobia mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia yaitu:

1. Bakteristatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakteristatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.
2. Bakteriosidal memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.
3. Bakteriolitik menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikrobia. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun.

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobia, merusak keutuhan dinding sel mikrobia, menghambat sintesis protein sel mikrobia, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikrobia (Sulistyo, 1971).

Daya antimikrobia diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan kemampuan suatu zat antimikrobia (Jawetz, 2001). Adanya fenomena ketahanan tumbuhan secara alami terhadap mikrobia menyebabkan pengembangan sejumlah senyawa yang berasal dari tanaman yang mempunyai kandungan antibakteri dan antifungi (Griffin, 1981).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10⁵-10⁸ CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

2.4 *Escherichia coli*

2.4.1 Definisi

Bakteri yang dikenal sebagai *Escherichia coli* adalah organisme gram-negatif berbentuk batang yang diklasifikasikan sebagai anggota famili

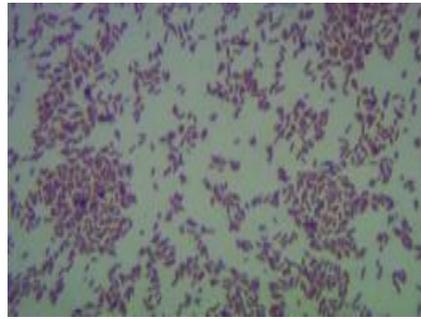
Enterobacteriaceae dan bagian dari kelas bakteri *Gammaproteobacteria*. Dalam kondisi pertumbuhan yang optimal, *E. coli* mampu tumbuh dengan cepat dan mereplikasi dirinya dalam waktu 20 menit (Jang *et al.*, 2017). *E. coli* merupakan penghuni komensal paling umum dari saluran pencernaan manusia dan menjadi salah satu patogen terpenting pada manusia sebagai komensal. Ia hidup dalam hubungan yang saling menguntungkan dengan inangnya dan jarang menyebabkan penyakit (Allocati *et al.*, 2013).

Meskipun demikian, sejumlah strain *E. coli* dapat menyebabkan diare atau penyakit ekstraintestinal baik pada individu yang sehat maupun dengan gangguan sistem imun (Gomes *et al.*, 2016). *E. coli* juga menjadi penyebab paling sering dari infeksi aliran darah dan infeksi saluran kemih (ISK) di antara bakteri gram-negatif lainnya. Selain itu, *E. coli* sering ditemukan di saluran genital wanita, menyebabkan kolonisasi vagina dan/atau endoserviks serta berbagai infeksi pada wanita hamil, seperti infeksi intra-amnion dan nifas, dan infeksi neonatus, seperti sepsis neonatorum dini dan lanjut (Vila *et al.*, 2016).

2.4.2 Taksonomi

Taksonomi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Liu, 2019).

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2. Bakteri *E. coli* pada Pewarnaan Gram dengan Perbesaran 100x (Samanta & Bandyopadhyay, 2020).

2.4.3 Morfologi

E. coli adalah bakteri gram-negatif, berbentuk batang pendek, berukuran $0,5 \mu\text{m} \times 1-3 \mu\text{m}$, bervariasi dari bentuk kokoid hingga bentuk filamen panjang. *E. coli* tidak membentuk spora dan sebagian besar motil dengan flagela peritrichous. Namun, motilitas mungkin tidak diamati pada beberapa strain karena tidak adanya flagella (Samanta & Bandyopadhyay, 2020). *E. coli* bersifat anaerobik fakultatif dan menghasilkan gas dari fermentasi karbohidrat (S. L. Percival & Williams, 2014).

Strain yang diadopsi di luar usus dienkapsulasi menghasilkan jenis koloni mukoid dalam media padat. Kapsul adalah polisakarida dan penentu virulensi yang memungkinkan bakteri patogen untuk menghindari atau melawan pertahanan inang yang tidak spesifik selama fase awal infeksi (Samanta & Bandyopadhyay, 2020). Strain mukoid kadang-kadang menghasilkan polimer ekstraseluler, umumnya disebut sebagai antigen K dan polisakarida asam, terdiri dari asam colanic, yang dikenal sebagai antigen M. *E. coli* menghasilkan berbagai jenis fimbriae yang penting selama adhesi sel inang. Fimbriae bervariasi baik secara struktural maupun antigenik pada strain *E. coli* yang berbeda (S. Percival *et al.*, 2004).

2.5 *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus* kali pertama dikenal oleh Pasteur (1880) dan Ogston (1881), dari seorang penderita. Selanjutnya, Becker pada tahun 1883 berhasil melakukan biakan murni dan Rosenbach (1884) untuk kali pertama mengetahui adanya hubungan kausal antara timbulnya suatu penyakit osteomielitis dengan bakteri *Staphylococcus* (Dzen *et al.*, 2003). *S. aureus* merupakan bakteri komensal dalam tubuh manusia tapi juga sering menjadi penyebab penting suatu infeksi (Wertheim *et al.*, 2005).

2.5.1 Klasifikasi

Genus *Staphylococcus* sedikitnya memiliki 40 spesies. Tiga spesies utama yang memiliki kepentingan klinis adalah *S. aureus*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Staphylococcus saprophyticus*. *S. aureus* bersifat koagulase-positif, yang membedakannya dari spesies lainnya (Brooks *et al.*, 2007)

2.5.2 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

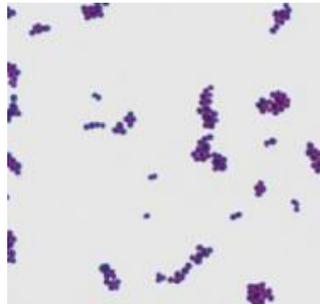
(Modric, 2011).

2.5.3 Sifat dan Morfologi

S. aureus termasuk dalam flora normal tubuh. Bakteri ini ditemukan lebih dari 40% berada pada hidung, kulit, aksila, dan perineum manusia (Gillespie & Bamford, 2000). *S. aureus* bersifat aerob dan anaerob fakultatif, tes katalase positif dan tahan hidup dalam lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi tinggi (halofilik), misalnya NaCl

10%. *S. aureus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk kokus bergerombol seperti anggur pada pewarnaan Gram (Chiller *et al.*, 2001). *S. aureus* berbentuk bulat (*spheres*) atau kokus dengan diameter 0,4- 1,2 μm (rata-rata 0,8 μm). Hasil pewarnaan yang berasal dari perbenihan padat akan memperlihatkan susunan bakteri yang bergerombol seperti buah anggur, sedangkan yang berasal dari perbenihan cair bisa terlihat bentukan bakteri lepas sendiri-sendiri, berpasangan atau rantai pendek yang pada umumnya terdiri lebih dari empat sel (Dzen *et al.*, 2003). Dengan pewarnaan gram bersifat gram positif. Namun dalam keadaan tertentu dapat pula bersifat gram negatif, misalnya *S. aureus* yang berasal dari bagian tengah koloni, *S. aureus* yang mengalami fagositosis oleh sel, dan *S. aureus* yang berasal dari perbenihan yang sudah tua (Dzen *et al.*, 2003).

S. aureus bersifat *non-motile* tidak membentuk spora. Sebagian besar spesies memiliki kebutuhan gizi kompleks relatif, tetapi pada umumnya mereka membutuhkan sumber organik nitrogen, dari 5 sampai 12 asam amino esensial, misalnya arginine, valine, dan vitamin B, termasuk thiamine dan nicotinamide (Harris *et al.*, 2002). Bakteri tersebut tidak dapat bergerak, meskipun demikian dengan cara tetes gantung dapat ditemukan suatu gerakan Brown. Beberapa galur dari *S. aureus* dapat membentuk kapsul dan medium perbenihan yang 7 mengandung bikarbonat dapat merangsang pembentukan kapsul ini (Dzen *et al.*, 2003).



Gambar 3. Pewarnaan gram menunjukkan *S. aureus* bersifat gram positif, berbentuk kokus dengan berpasangan, tetrad, dan kluster perbesaran 1000x (Brookset *al.*, 2007).

2.5.4 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri *S. aureus* memerlukan suhu optimal antara 28-38° C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu optimal yang diperlukan adalah 37° C. pH optimal untuk pertumbuhan *S. aureus* adalah 7,4 (Dzen *et al.*, 2003). Suhu yang paling bagus untuk membentuk pigmen adalah 20-25° C. *S. aureus* mudah berkembang pada sebagian medium bakteriologik dalam lingkungan aerobik atau mikroaerofilik (Brooks *et al.*, 2007). Pada umumnya *S. aureus* dapat tumbuh pada medium-medium yang biasa dipakai di laboratorium bakteriologi misalnya sebagai berikut :

2.5.4.1 *Nutrient Agar Plate (NAP)*

Medium tersebut penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *S. aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensinya lunak (Dzen *et al.*, 2003).

2.5.4.2 Blood Agar Plate (BAP)

Medium tersebut dipakai secara rutin. Koloninya akan tampak lebih besar, dan pada galur yang ganas biasanya memberikan zona hemolisa yang jernih di sekitar koloni yang mirip koloni *Streptococcus β hemolyticus* (Dzen *et al.*, 2003).

Pada umumnya, untuk membiakkan *S. aureus*, perlu medium yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin, misalnya: threonin, asam nikotinat, dan biotin (Dzen *et al.*, 2003). Untuk isolasi primer dari infeksi campuran, terutama yang berasal dari tinja atau luka-luka, perlu medium yang mengandung garam NaCl konsentrasi tinggi misalnya 7,5% atau medium yang mengandung polimiksin (Polymixin S. Medium) (Dzen *et al.*, 2003).



Gambar 4. Koloni bakteri *S. aureus* pada blood agar plate setelah inkubasi 24 jam. (Brooks *et al.*, 2007).

2.5.5 Daya Tahan Bakteri

S. aureus merupakan salah satu bakteri yang tidak membentuk spora yang paling tahan terhadap bahan kimia. Untuk itu, salah satu galur *Staphylococcus* tertentu seperti *S. aureus* ATCC 29213 dapat digunakan sebagai standar tes evaluasi bahan antiseptika atau antibiotika (Dzen *et al.*, 2003). *S. aureus* relatif resisten terhadap pengeringan, panas (bakteri ini tahan terhadap

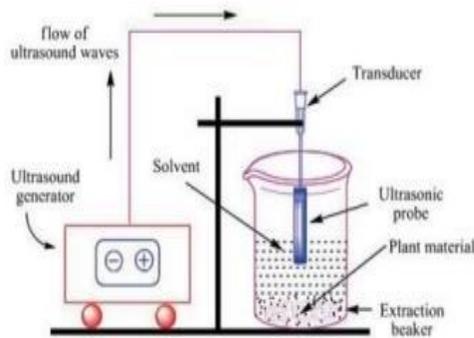
suhu 50° C selama 30 menit), dan terhadap natrium klorida 9% tetapi mudah dihambat oleh zat kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3% (Brooks *et al.*, 2007). Bakteri ini dapat bertahan hidup sampai beberapa bulan dalam suhu kamar pada agar miring atau keadaan beku, dan dapat hidup selama 14- 16 minggu dalam keadaan kering. Daya tahan terhadap bahan kimia bervariasi dalam fenol 2% mati dalam waktu 15 menit, dalam hidrogen peroksida 3% mati dalam waktu 3 menit, dan dalam tinctura iodii mati dalam waktu 1 menit (Dzen *et al.*, 2003). Beberapa galur dari *S. aureus* menghasilkan enzim penisilinase sehingga resisten terhadap golongan obat penisilin, tapi biasanya masih peka terhadap golongan *penisilinase*, misalnya metisilin dan oksasilin. Namun demikian, juga telah dikenal galur *Staphylococcus* yang resisten terhadap metisilin yang dikenal *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Methicillin Resistant Staphylococcus epidermidis* (MRSE). Galur ini sering menimbulkan masalah di klinik karena sifatnya yang resisten β -laktam, tetapi biasanya masih peka terhadap vankomisin atau golongan aminoglikosida (Dzen *et al.*, 2003).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu cara untuk memisahkan bagian-bagian yang berkhasiat obat dari suatu tumbuhan dengan menggunakan pelarut tertentu melalui prosedur standar (Azwanida, 2015). Ekstraksi dapat didefinisikan sebagai perlakuan bahan tanaman dengan pelarut dimana konstituen obat aktif dilarutkan dan sebagian besar bahan inert tetap tidak larut (Swamy & Akhtar, 2019). Ekstraksi bertujuan untuk memisahkan metabolit tanaman yang larut dari bahan yang tidak larut (residu) sehingga dapat diperoleh senyawa yang diinginkan (Azwanida, 2015). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dikenal sebagai menstrum dan bahan inert tidak larut yang tersisa setelah ekstraksi

disebut *marc* (Swamy & Akhtar, 2019). Prosedur ekstraksi terdiri dari langkah-langkah berikut: (1) pelarut menembus matriks padat; (2) zat terlarut larut dalam pelarut; (3) zat terlarut berdifusi menjauh dari matriks padat; dan (4) zat terlarut yang diekstraksi dikumpulkan (Zhang *et al.*, 2018).

Terdapat beberapa cara yang dapat digunakan dalam proses pemisahan senyawa alami dari tumbuhan, yaitu metode konvensional dan metode modern. Metode ekstraksi konvensional terdiri dari maserasi, sokletasi, perkolasi, infus, rebusan, digesti, dan serial *exhaustive extraction*. Metode ekstraksi modern terdiri dari *Supercritical CO₂ Extraction (SC-CO₂)*, *Microwave-Assisted Extraction (MAE)*, *Ultrasound-Assisted Extraction (UAE)*, *Enzyme Assisted Extraction (EAE)*, *Pressurized Fluid Extraction (PFE)* (Alara *et al.*, 2021). Metode konvensional umumnya dilakukan pada tekanan atmosfer sedangkan metode modern dilakukan pada tekanan dan/atau suhu tinggi (Rasul, 2018). Pada metode ekstraksi konvensional biasanya dibutuhkan pelarut organik dalam jumlah banyak dan durasi ekstraksi yang cukup lama. Dibandingkan dengan metode tradisional, metode ekstraksi modern memiliki banyak manfaat, seperti penggunaan pelarut organik yang lebih sedikit, waktu ekstraksi yang lebih singkat, dan selektivitas yang lebih tinggi (Zhang *et al.*, 2018). *Ultrasound-Assisted Extraction (UAE)* disebut juga ekstraksi ultrasonik atau sonikasi. UAE menggunakan gelombang ultrasonik dengan rentang frekuensi 20-2000 KHz. Efek mekanis kavitasi ultrasonik inilah yang menyebabkan peningkatan kontak permukaan antara pelarut dan sampel, serta peningkatan permeabilitas dinding sel. *Ultrasound* dapat mengubah sifat fisikokimia bahan, menyebabkan dinding sel tanaman pecah, memungkinkan pelepasan senyawa, dan memudahkan pelarut untuk pindah ke sel tumbuhan.



Gambar 5. *Ultrasonic Probe* (Swamy & Akhtar, 2019).

Metodenya mudah dan teknologinya cukup murah, sehingga cocok digunakan untuk ekstraksi fitokimia baik dalam skala kecil maupun besar (Azwanida, 2015). UAE memberikan reproduktifitas tinggi, waktu ekstraksi lebih singkat, jumlah pelarut lebih sedikit, suhu lebih rendah, dan jumlah energi lebih rendah daripada metode modern lainnya (Aziz *et al.*, 2021).



Gambar 6. *Ultrasonic water bath* (Aziz *et al.*, 2021).

Salah satu metode ekstraksi yang menggunakan bantuan gelombang ultrasonik disebut *Ultrasonic Assisted Extraction* atau sonikasi. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi (≥ 20 kHz) (Luque-García and Luque De Castro, 2003). Penggunaan gelombang ultrasonik dilakukan untuk memastikan kontak yang lebih efisien antara sampel dan pelarut yang digunakan, sehingga memungkinkan terjadinya proses ekstraksi yang lebih cepat (Jose-Luis & Capelo-Martinez, 2009).

Dengan gelombang ultrasonik, partikel padat dan cair digetarkan dan dipercepat kemudian zat terlarut dari sampel dengan cepat keluar dari fase padat ke pelarut (Uddin *et al.*, 2018). UAE tidak membutuhkan instrumentasi yang rumit atau mahal, sehingga dapat digunakan baik dalam skala analitis maupun komersial (Picó, 2013). Mekanisme ekstraksi dengan menggunakan metode UAE dimulai dengan adanya energi mekanik yang diciptakan oleh getaran gelombang *ultrasound* pada frekuensi yang tinggi sehingga menyebabkan terbentuknya rongga dalam cairan. Selanjutnya terjadi ekspansi gelembung dengan penyerapan energi. Kemudian membran sel mengalami gangguan akibat pecahnya gelembung sehingga memudahkan terjadinya penetrasi pelarut ke dalam sampel. Terakhir, terjadilah pelepasan senyawa ke dalam pelarut yang digunakan. Faktor penting untuk mencapai ekstraksi yang efisien dan efektif menggunakan UAE adalah kadar air dan ukuran partikel sampel, pelarut, derajat kehalusan, frekuensi, dan waktu sonikasi (Uddin *et al.*, 2018).

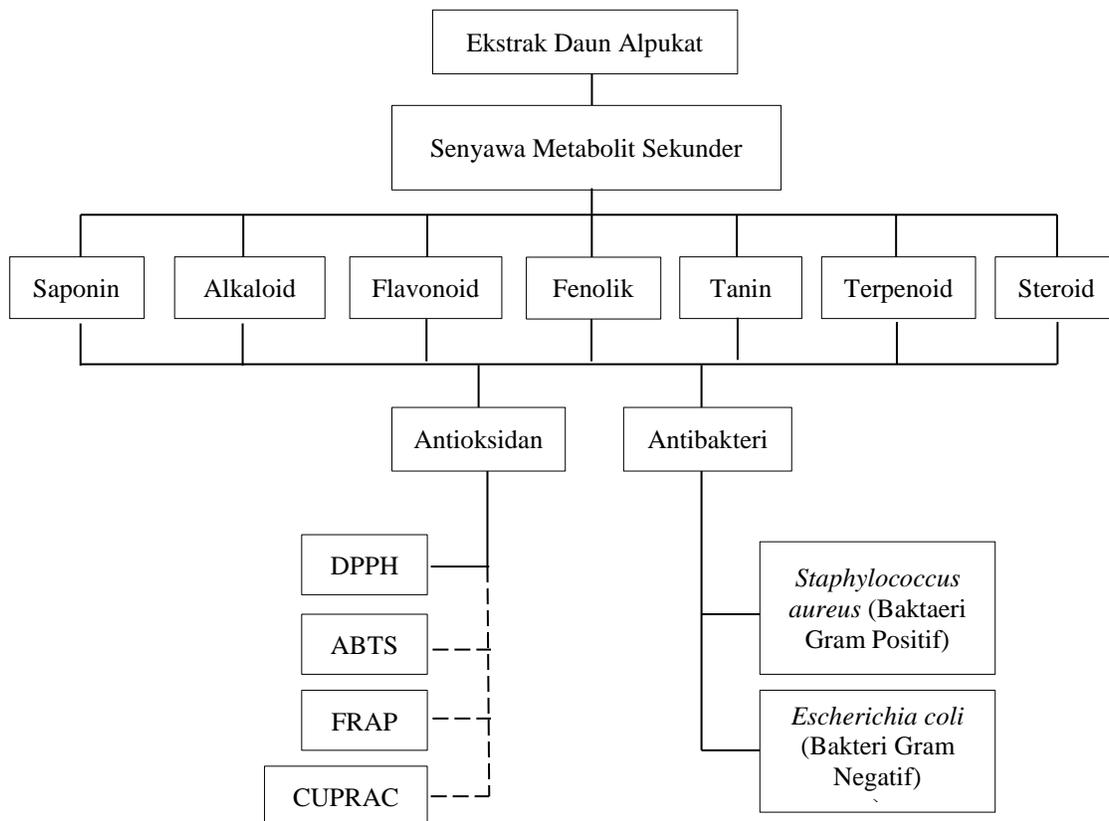
Kelebihan utama ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik adalah waktu ekstraksi yang lebih singkat dari waktu yang dibutuhkan oleh metode konvensional lainnya (Luque-García and Luque De Castro, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh (Jovanović *et al.*, 2017) menghasilkan senyawa polifenol yang lebih tinggi dari *Tymus serpyllum L.* dengan metode UAE pada kondisi optimal (50% etanol sebagai pelarut, perbandingan rasio simplisia dan pelarut 1:30, ukuran partikel 0,3 mm dan waktu ekstraksi 15 menit) daripada metode maserasi dan ekstraksi dengan bantuan panas lainnya (Jovanović *et al.*, 2017). Ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik juga dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak sehingga dapat digunakan pada ekstrak yang tidak tahan panas (Zou *et al.*, 2014).

2.7 Senyawa Metabolit Sekunder

Ada dua jenis senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer didistribusikan secara luas dan penting untuk aktivitas sel (Aminah *et al.*, 2021). Metabolit sekunder terbukti memainkan berbagai aktivitas pada tumbuhan. Metabolit sekunder secara tidak langsung terlibat dalam banyak tahap perkembangan tanaman dan meningkatkan kelangsungan hidup tanaman. Metabolit sekunder juga berguna dalam meningkatkan interaksi penyerbukan tanaman, mendorong penciptaan bakteri pengikat nitrogen, memberikan rasa dan warna tertentu pada tumbuhan, dan melindungi terhadap sinar ultraviolet (UV) yang terpancar dari sinar matahari. Metabolit sekunder tanaman juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan dapat digunakan untuk alternatif pengobatan penyakit infeksi bakteri (Birchfield & McIntosh, 2020). Semua tanaman mengandung banyak metabolit sekunder, termasuk tanin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid, yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri secara *in vitro* (Kumari *et al.*, 2021). Struktur inti dalam metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan adalah (1) senyawa yang mengandung N, (2) fenilpropanoid, (3) benzenoid, (4) flavonoid, dan (5) terpen (Wang *et al.*, 2019).

2.8 Kerangka Penelitian

2.8.1 Kerangka Teori



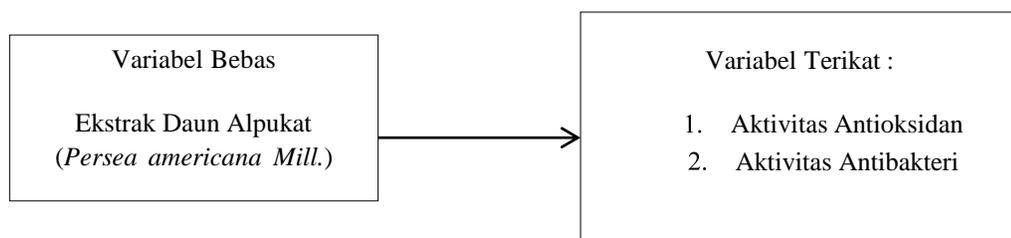
Gambar 7. Kerangka Teori

Keterangan :

— : Diteliti

----- : Tidak diteliti

2.8.2 Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep

2.8.3 Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan suatu hipotesis sebagai berikut :

H0 : Tidak terdapat aktivitas antioksidan dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.)

H1 : Terdapat aktivitas antioksidan dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.)

H0 : Tidak terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*

H1 : Terdapat aktivitas antibakteri dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Tujuan penelitian ini dilakukan untuk melihat potensi ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) sebagai antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri (*S. aureus*) dan (*E. coli*) dengan menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction*. Adapun pelarut etanol 96% digunakan untuk ekstraksi. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode uji difusi sumuran. Untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder, dilakukan uji penapisan fitokimia.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di beberapa laboratorium berdasarkan tahapan penelitian, yaitu :

- a. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- b. Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.
- c. Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Provinsi Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024 – Mei 2024.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang akan dipakai pada penelitian ini diantaranya *ultrasonic cleaning bath* (Ovan[®]), blender (Cosmos[®]), seperangkat alat *rotary evaporator* (Buchi[®]), kertas saring (Whatman[®]), batang pengaduk (Pyrex[®]), aluminium foil (Total[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), corong (Herma[®]), erlenmeyer (Herma[®]), gelas kimia (Pyrex[®]), labu ukur (Pyrex[®]), pipet tetes (Iwaki[®]), pipet volume (Pyrex[®]), tip (Onemed[®]), mikro pipet (Dragon Onelab[®]), oven (Memmert[®]), tabung reaksi (Iwaki[®]), neraca analitik (Optika[®]), plastik wrap (Klinpak[®]), cawan petri (Pyrex[®]), kawat ose (Iwaki[®]), incubator (Nesco[®]), pinset (Elbow[®]), jangka sorong (Taffware[®]), laminar air flow (Robust[®]), spektrofotometer *UV-Vis* UV-1900i (Shimadzu[®]).

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang akan dipakai pada penelitian diantaranya daun alpukat, etanol 96% (Smartlab[®]), aquades, H₂SO₄ 2N (Sigmaaldrich[®]), pereaksi Dragendorff (Sigmaaldrich[®]), Pereaksi Meyer (Sigmaaldrich[®]), Pereaksi Wagener (Sigmaaldrich[®]), NaCl 0,9% (Sigmaaldrich[®]), HCl pekat (Mallinckrodt[®]), serbuk Mg (Sigmaaldrich[®]), serbuk zink (Granular[®]), FeCl₃ (Sigmaaldrich[®]), kloroform (Sigmaaldrich[®]), HCl 2N (Sigmaaldrich[®]), Na₂CO₃ 7,5% (Sigmaaldrich[®]), pereaksi Liebermann-Burchad (Sigmaaldrich[®]), Nutrient Agar (NA) (Sigmaaldrich[®]), asam galat (Sigma[®]), reagen Folin-Ciocalteu (Sigmaaldrich[®]), DMSO 5% (Sigmaaldrich[®]), larutan standar 0,5 Mc Farland, bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, Media TSB (Trypticase Soy Broth) (Millipore[®]), antibiotik amoksisilin (Hexpharm[®]), larutan DPPH (TCI[®]), dan vitamin C (MERCK[®]).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri (*S. aureus*) dan (*E. coli*) dengan komponen senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun alpukat dengan perbandingan konsentrasi 10%, 20%, 40 %, 80%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil data uji aktivitas berupa lebar diameter zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak etanol ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar senyawa uji yang terdapat pada media agar-agar sebagai parameter menentukan adanya daya hambat pertumbuhan bakteri (*S. aureus*) dan (*E. coli*) dan kandungan aktivitas antioksidan pada daun alpukat dengan parameter nilai IC_{50} .

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun alpukat yang diperoleh dari Kelurahan Perumnas Way Halim, Kecamatan Way Halim, Bandar Lampung. Pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari dikarenakan memiliki kualitas lebih baik. Sampel yang digunakan adalah daun yang memiliki warna hijau segar (basah) sebanyak 1 kg.

3.5.2 Determinasi Tanaman

Determinasi daun alpukat dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Uji determinasi daun alpukat dilakukan untuk memastikan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman alpukat.

3.5.3 Persiapan Sampel

Daun alpukat 1 kg dipisahkan dengan rantingnya, lalu dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang menempel. Kemudian, keringkan daun alpukat dengan cara di angin-anginkan terlindungi dari sinar matahari selama kurang lebih dua minggu. Selanjutnya, daun alpukat yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia.

3.5.4 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia daun alpukat ditimbang dan direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:7 selama 10 menit pada suhu kamar menggunakan *ultrasonic bath* pada suhu 40°C. Setelah proses sonikasi selesai, hasilnya disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke labu erlenmeyer. Setelah filtrat terkumpul, dilakukan pemekatan dalam *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk memperoleh ekstrak kental dan ditentukan persentase rendemennya (Mendez-Flores *et al.*, 2018).

3.5.5 Uji Penapisan Fitokimia

Untuk mengetahui apakah ekstrak daun alpukat mengandung metabolit sekunder atau tidak, dilakukan uji penapisan fitokimia dengan menggunakan prosedur standar (Shaikh & Patil, 2020). Sejumlah uji penapisan fitokimia tersedia sebagai berikut :

1. Uji Saponin (*Foam test*)

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N, maka sampel positif mengandung saponin (Harborne, 1987).

2. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat (II)), Wagner (iodin dalam kalium iodida) dan Dragendroff (bismut nitrat dalam kalium iodida). Sampel yang mengandung alkaloid akan membentuk endapan jingga sampai kecoklatan dan terbentuk endapan apabila direaksikan dengan masing-masing dari ketiga reagen tersebut (Harborne, 1987).

3. Uji Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Penambahan serbuk Mg bertujuan agar membentuk ikatan dengan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Penambahan HCl bertujuan untuk membentuk garam flavilium yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga (Harborne, 1987).

4. Uji Fenolik (*Ferric Chloride test*)

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 tetes FeCl_3 5%. Adapun indikasi adanya senyawa fenolik dapat ditentukan dengan munculnya larutan berwarna hijau tua atau hitam kebiruan (Shaikh & Patil, 2020).

5. Uji Tanin (*Braymer's test*)

Uji tanin/polifenol dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl_3 5 % terhadap sampel. Sampel mengandung polifenol akan membentuk senyawa kompleks Fe^{3+} - tanin/polifenol dengan ikatan koordinasi dan ada perubahan warna menjadi biru kehitaman/hijau kecoklatan. Hal ini terjadi karena atom O pada tanin mendonorkan pasangan elektron bebasnya ke Fe^{3+} yang membentuk ikatan kovalen koordinat dan menjadi suatu senyawa kompleks (Harborne, 1987).

6. Uji Terpenoid dan Steroid

Uji terpenoid/steroid dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Sampel yang mengandung senyawa golongan steroid akan berubah warna menjadi hijau kebiruan. Sedangkan senyawa golongan triterpenoid akan berubah warna membentuk cincin coklat atau violet (Harborne, 1987).

3.5.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan daun alpukat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) dengan adanya sedikit modifikasi pada pengujian. Metode ini dikembangkan dengan tujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas yang stabil, 1,1- Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH; $C_{18}H_{12}N_5HAI_6$, $M = 394.33$). Pengujian DPPH merupakan metode yang valid, akurat, mudah dan ekonomis untuk mengevaluasi aktivitas penangkapan radikal antioksidan, karena senyawa radikal stabil (Kedare & Singh, 2014). Berikut adalah tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Tristantini *et al.*, 2016).

Tabel 1. Klasifikasi Kekuatan Antioksidan

Nilai IC_{50}	Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
100-150	Sedang
151-200	Lemah

Di antara banyaknya metode penangkal radikal bebas, metode 1,1-Difenil-2- Pikrilhidrazil (DPPH) dipilih karena lebih cepat dan sederhana (yaitu tidak melibatkan banyak langkah dan reagen) serta murah dibandingkan dengan model uji lainnya (Dontha, 2016).

Pengukuran aktivitas antioksidan pada daun alpukat, dengan adanya sedikit modifikasi yaitu 2 ml DPPH 0,1 mm ditambah dengan 1 ml presipitasi kental dengan konsentrasi 20 µg/ml; 40 µg/ml, 60 µg/ml; 80 µg/ml dan 100 µg/ml. Campuran selanjutnya dikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit ditempat gelap. Larutan ini selanjutnya diukur absorbansinya pada λ maks 517 nm. Aktivitas penangkapan radikal DPPH ditentukan dengan menggunakan kurva konsentrasi standar penghambatan radikal % DPPH (penghambatan radikal).

$$\text{In. DPPH (\%)} = \frac{(A \text{ blanko} - A \text{ sampel})}{A \text{ blanko}} \times 100$$

Nilai IC₅₀ (50% *Inhibitory Concentration*) ditentukan dengan analisis probit dari data log konsentrasi dengan probit persentase pengikatan radikalbebas.

3.5.7 Aktivitas Antibakteri dengan Metode Sumuran

Pembuatan media agar dalam pengujian, langkah pertama adalah mencampur 8 g Nutrient Agar (NA) dengan 400 mL aquades steril. Campuran tersebut dipanaskan mencapai titik didih. Proses pengadukan dilakukan menggunakan *magnetic stirrer* yang berguna untuk memastikan bahwa bahan di media tersebar merata dan tercampur baik. Kemudian, media tersebut dijalani proses sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah nutrient agar telah siap dan steril, media tersebut dituang ke dalam cawan petri yang telah disterilkan.

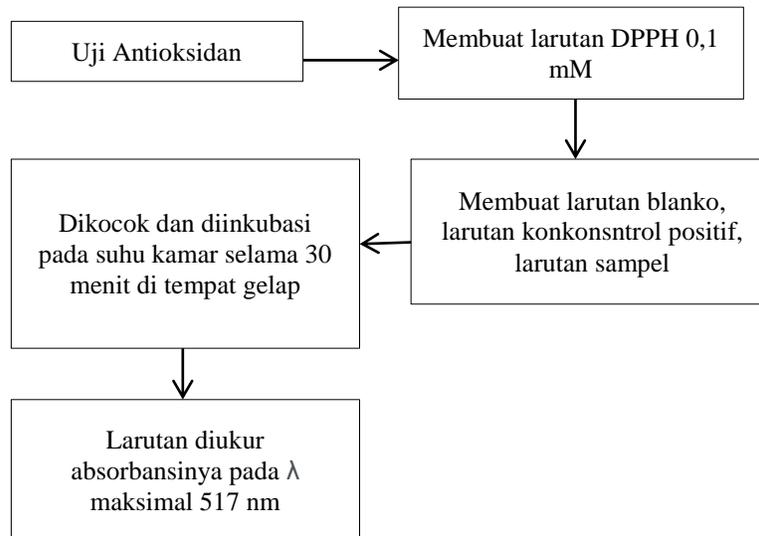
Tabel 2. Konsentrasi masing-masing sampel uji aktivitas antibakteri

Sampel	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Kontrol positif	Amoxicillin 1%	Amoxicillin 1%
Kontrol negatif	DMSO 5%	DMSO5%
Ekstrak 10%	100 mg/ml	100 mg/ml
Ekstrak 20%	200 mg/ml	200 mg/ml
Ekstrak 40%	400 mg/ml	400 mg/ml
Ekstrak 80%	800 mg/ml	800 mg/ml

Pada suhu 45°C ditambah suspensi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 500 µL digoyang sampai homogen. Selanjutnya media ditunggu sampai mengeras dan padat. Selanjutnya dibuat lubang sumuran menggunakan ujung pipet kuning steril. Selanjutnya dimasukkan pada masing-masing lubang sebanyak 10%, 20%, 40%, 80%, kontrol (+), dan kontrol (-) yang masing-masingnya 50 µL. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Rizki *et al.*, 2022).

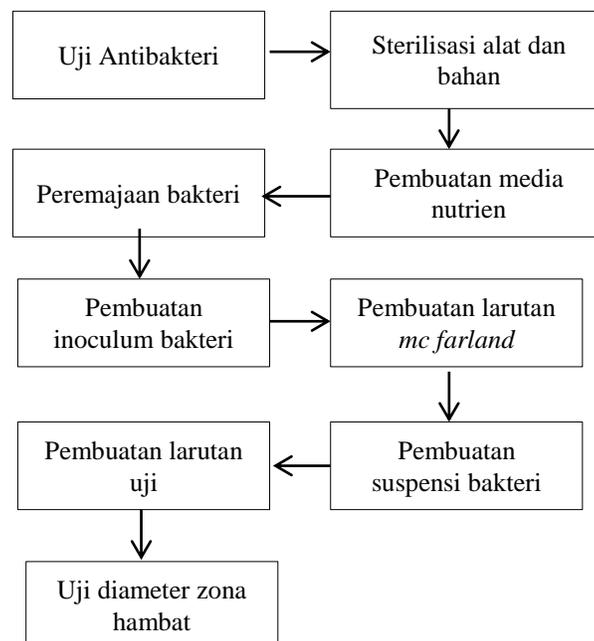
3.6 Diagram Alur Penelitian

3.6.1 Pengukuran Aktivitas Antioksidan



Gambar 9. Bagan Pengukuran Aktivitas Antioksidan

3.6.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri



Gambar 10. Bagan Pengujian Aktivitas Antibakteri

3.7 Analisis Data

Analisis uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini, dilakukan pengambilan data sehingga data tersebut dapat dianalisa dan diolah. Teknik pengolahan data dilakukan dengan membandingkan konsentrasi dengan nilai % aktivitas antioksidan masing-masing sampel dalam sebuah grafik regresi yang dibuat di *Microsoft excel 2021* dan untuk analisis data uji antibakteri dilakukan secara deskriptif dengan cara melakukan pengamatan berupa pengukuran zona hambat pada daerah yang berwarna bening yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun alpukat terhadap pertumbuhan bakteri (*S. aureus*) dan (*E. coli*).

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) mengandung senyawa saponin positif kuat, fenolik positif sedang, tannin, flavonoid, dan alkaloid positif lemah, dan negatif terhadap terpenoid dan steroid.
2. Ekstrak etanol daun alpukat memiliki hasil IC_{50} yaitu 81,67 ppm yang masuk dalam golongan IC_{50} kuat.
3. Ekstrak etanol daun alpukat memiliki avkitivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 80% memiliki diameter zona hambat rata-rata sebesar 12,1 mm, 12,43 mm, 13,6 mm, dan 14,067. Sedangkan pada kontrol positif yaitu amoksisilin memiliki diameter hambat rata-rata sebesar 26,267 mm dan kontrol negatif tidak memberikan diameter zona hambat. Ekstrak etanol daun alpukat tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan memiliki diameter zona hambat rata-rata 33,83 mm terhadap kontrol positif amoksisilin.

5.2 Saran

Berdasarkan simpulan dari penelitian ini, penulis menyarankan :

- 5.2.1 Bagi Peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai standarisasi daun alpukat yang lain yaitu kadar abu, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol.

Selain itu, dapat dilakukan percobaan lanjutan dengan membuat konsentrasi ekstrak etanol daun alpukat menjadi lebih besar.

- 5.2.2 Bagi Institusi Pendidikan dapat dijadikan sumber informasi ilmiah tambahan dan dijadikan acuan atau referensi bagi penelitian selanjutnya tentang manfaat ekstrak etanol daun alpukat sebagai data dukung Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, khususnya di bidang *agromedicine*.
- 5.2.3 Bagi Masyarakat dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak etanol daun alpukat sebagai tanaman obat yang memiliki banyak manfaat untuk kesehatan tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. N. F., Aisyah, A., & Baharuddin, M. (2014). Isolasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana*) dan Uji Toksisitas Terhadap *Artemia Salina* Leach. *Al-Kimia*, 2(1), 25–32.
- Adeyemi, O. O., Okpo, S. O., & Ogunti, O. O. (2002). Analgesic and anti-inflammatory effects of the aqueous extract of leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae). *Fitoterapia*, 73(5), 375–380. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00118-1](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00118-1)
- Adha, A. C. (2009). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea Americana mill.) Terhadap aktivitas Diuretik Tikus Putih Jantan Sprague- Dawley*. Institut Pertanian Bogor.
- Alfira, A. (2014). *Uji Aktifitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Aktif Kulit Batang Sintok (Cinnamomum sintoc Blume)*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Alkhalaf, M. I., Alansari, W. S., Ibrahim, E. A., & ELhalwagy, M. E. A. (2019). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of avocado (*Persea americana*) fruit and seed extract. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 1358–1362. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.10.010>
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(12), 6235–6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- Andareto, O. (2015). *Apotik Herbal di Sekitar Anda*. Pustaka Ilmu Semesta.
- Asaolu, M. F., Asaolu, S., & Adanlawo, I. G. (2010). Evaluation of Phytochemicals and Antioxidants of Four Botanicals with Antihypertensive Properties. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2).
- Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal &*

- Aromatic Plants*, 04(03),1–6. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Bialystok, E. (2017). Second language: Impact on early cognitive development | Encyclopedia on Early Childhood Development. *Encyclopedia of Early Childhood Development*, 18(3), 465–483. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.3.465>
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2007). Enteric Gram- Negative Rods (Enterobacteriaceae). In *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology* (24th ed.). McGraw-Hill.
- Chiller, K., Selkin, B. A., & Murakawa, G. J. (2001). Skin Microflora and Bacterial Infections of the Skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 6(3), 170–174. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.00043.x>
- Dalimartha, S., & Adrian, F. (2013). *Fakta Ilmiah Buah & Sayur*. Penebar Plus. Dzen, S. M., Roekistiningsih, S. S., Winarsih, S., Sumarno, I. S., & Felistiani, V. (2017). *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Alpukat (Persea americana Mill.) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar dan Limpa pada Mencit (Mus musculus) yang Diinfeksi Staphylococcus aureus*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Gillespie, S., & Bamford, K. (2000). Staphylococcus. In *Medical Microbiology and Infection at a Glance*. Wiley-Blackwell.
- Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C. A., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M. F., Ferreira, L. C. S., & Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic Escherichia coli. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 3–30. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
- Harris, L. G., Foster, S. J., & Richards, R. G. (2002). An Introduction to Staphylococcus aureus, and Techniques for Identifying and Quantifying S. aureus Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials: Review. *European Cells and Materials*, 4, 39–60. <https://doi.org/10.22203/eCM.v004a04>
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
- Ibroham, M. H., Jamilatun, S., & Kumalasari, I. D. (2022). A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan di Indonesia sebagai Antioksidan Alami. *Seminar Nasional Penelitian*, 1–13. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>

- Irawati, N. A. V. (2015). Antihypertensive Effects of Avocado Leaf Extract (*Persea americana* mill). *Journal Majority*, 4(1), 44–48.
- Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental Escherichia coli : Ecology and Public Health Implications-A Review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Katja, D. G., & Suryanto, E. (2009). POTENSI DAUN ALPUKAT (*Persea Americana* Mill) SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAM. *POTENSI DAUN ALPUKAT (Persea Americana Mill) SEBAGAI SUMBER ANTIOKSIDAN ALAMI*, 2(1), 58–64.
- Kolawole, O. T., Kolawole, S. O., Ayankunle, A. A., & Olaniran, I. O. (2012). Methanol Leaf Extract of *Persea americana* Protects Rats against Cholesterol- Induced Hyperlipidemia. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 2(2), 235–242. <https://doi.org/10.9734/BJMMR/2012/933>
- Liu, D. (2019). Escherichia coli. In T. M. Schmidt (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (4th ed., pp. 171–182). Academic Press.
- Mardiyaningsih, A., & Ismiyati, N. (2014). Cytotoxic Activity of Ethanolic Extract of *Persea americana* Mill. Leaves on HeLa Cervical Cancer Cell. *Traditional Medicine Journal*, 19(1), 24–28.
- Marrero-Faz, E., Sanchez-Calero, J., Young, L., & Harvey, A. (2014). Inhibitory Effect of *Persea americana* Mill Leaf Aqueous Extract and Its Fraction on PTP1B as Therapeutic Target for Type 2 Diabetes. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 13(2), 144–151.
- Ogundare, A. O., & Oladejo, B. O. (2014). Antibacterial Activities of the Leaf and Bark Extract of *Persea americana*. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(1), 64–71.
- Oktoba Z., Adjeng A., Sangging P. 2023. Pemberdayaan Kelompok Tani dalam Pemanfaatan Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Sebagai Produk Suplemen Antioksidan. *JPM Wikrama Parahita*, 7(1), 5480
- Percival, S., Chalmers, R., Embrey, M., Hunter, P., Sellwood, J., & Wyn-Jones, P. (2004). Escherichia coli. In *Microbiology of Waterborne Diseases* (pp. 71–90). Elsevier.
- Percival, S. L., & Williams, D. W. (2014). Escherichia coli. In *Microbiology of Waterborne Diseases* (2nd ed., pp. 89–117). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00006-8>

- Pradita, C. D. (2017). *Uji Efek Antiinflamasi Dekokta Kulit Alpukat (Persea americana Mill.) pada Mencit Jantan Galur Swiss Terinduksi Karagenin*. Universitas Sanata Dharma.
- Rahman, R., Hardi, I., & Baharuddin, A. (2018). Identifikasi Bakteri Staphylococcus Sp Pada Handphone Dan Analisis Praktik Personal Hygiene. *Window of Health*, 1(1), 40–49.
- Ranade, S. S., & Thiagarajan, P. (2015). A review on *Persea Americana* Mill (Avocado)- Its fruit and oil. *International Journal of PharmTe Research*, 8(6), 72–77.
- Samanta, I., & Bandyopadhyay, S. (2020). Escherichia coli. In *Antimicrobial Resistance in Agriculture* (pp. 171–193). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815770-1.00015-8>
- Sari, A. U., Annisa, N., Ibrahim, A., & Rijai, L. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus*. 20–21. <https://doi.org/10.25026/mpc.v4i1.157>
- Silviana, & Asri, M. T. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Lichen Usnea sp terhadap Pertumbuhan Bakteri *Ralstonia solanacearum*. *Sains Dan Matematika*, 7(1), 20–25. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/sainsmatematika/article/view/17217%0Ahttps://journal.unesa.ac.id/index.php/sainsmatematika/article/download/17217/7918>
- Sunarjono, H. H. (1998). *Prospek Berkebun Buah*. Penebar Swadaya.
- Talha, J., Priyanka, M., & Akanksha, A. (2011). Hypertension and Herbal Plants. *International Research Journal of Pharmacy*, 2(8), 26–30.
- Tengo, N. A., Bialangi, N., & Suleman, N. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *Jurnal Saintek*, 7(1).
- Vaya, J., & Aviram, M. (2001). Nutritional Antioxidants Mechanisms of Action, Analyses of Activities and Medical Applications. *Current Medicinal Chemistry- Immunology, Endocrine & Metabolic Agents*, 1(1), 99–117. <https://doi.org/10.2174/1568013013359168>
- Vila, J., Sáez-López, E., Johnson, J. R., Römling, U., Dobrindt, U., Cantón, R., Giske, C. G., Naas, T., Carattoli, A., Martínez-Medina, M., Bosch, J., Retamar, P., Rodríguez-Baño, J., Baquero, F., & Soto, S. M. (2016). *Escherichia coli*: An Old Friend with New Tidings. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(4), 437–463. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw005>

- Wertheim, H. F. L., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The Role of Nasal Carriage in *Staphylococcus aureus* Infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(12), 751–762. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(05\)70295-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(05)70295-4)
- Wijaya, I. (2020). Potensi Daun Alpukat Sebagai Antibakteri. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 695–701. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.381>
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami & Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius.
- Yachya, A., & Sulistyowati, S. (2015). Aktivitas Anti Bakteri Biji dan Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* Mill.) terhadap *Aerobacter aerogenes* dan *Proteus mirabilis*. *WAKTU: Jurnal Teknik UNIPA*, 13(2), 30–37. <https://doi.org/10.36456/waktu.v13i2.55>
- Yanti, A., Kriswiyanti, E., Darmadi, A. A. K., & Jimbaran, B. (2022). *1 1 , 1 , 1**. *September*, 140–151.