

UJI ZONA HAMBAT EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Cut Riska Andriani, Frida Oesman dan Risa Nursanty

Abstrak. Ekstrak etil asetat daun alpukat telah diujikan terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi, 15; 20; 25; 30; dan 35%.. Kontrol positif dan negatif masing-masing menggunakan streptomisin dan pelarut etil asetat. Pembuatan ekstrak etil asetat daun alpukat dilakukan dengan metode maserasi. Pengujian zona hambat dilakukan menggunakan metode difusi agar. Ekstrak etil asetat daun alpukat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh masing-masing ekstrak etil asetat daun alpukat (15; 20; 25; 30; dan 35%,) sebesar 7,18; 8,11; 9,15; 11,25 dan 12,45 mm. (JKS 2016; 1:1-5)

Kata kunci: Daun alpukat, etil asetat, *Staphylococcus aureus*, zona hambat

Abstract. Ethyl acetate extract of avocado leaf has been tested against *Staphylococcus aureus* with concentrations 15; 20; 25; 30; and 35%. The positive and negative control used streptomycin and ethyl acetates. Ethyl acetate extract of avocado was producing used maceration method. The zones of growth inhibition was done using agar diffusion method. Ethyl acetate extract of avocado leaf have exhibited considerable inhibitory effects against *S. aureus*. Zones of growth inhibition with concentration 15; 20; 25; 30 and 35% were 17,8; 8,11; 9,15; 11,25 and 12,45 mm respectively. (JKS 2016; 1:1-5)

Key words: Avocado leaf, ethyl acetate, *Staphylococcus aureus*, inhibition zone

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki berbagai macam jenis tanaman khususnya yang berkhasiat sebagai obat. Senyawa metabolit sekunder yang dimiliki oleh berbagai tanaman telah banyak diteliti karena dapat memberikan efek fisiologi dan efek farmakologi¹. Hal ini mengakibatkan penggunaan produk alami sebagai obat dan jamu meningkat sejalan dengan himbauan pemerintah untuk kembali ke alam (*back to nature*).

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan salah satu tanaman berkhasiat yang dapat menyembuhkan penyakit. Bagian organ tanaman alpukat yang banyak dimanfaatkan adalah daunnya. Daun

alpukat dapat menyembuhkan penyakit kencing batu, radang gusi, disentri, dan nyeri haid². Hasil penelitian Zuraidhah (2008) tentang kearifan lokal masyarakat Pidie menemukan adanya pemanfaatan daun alpukat untuk mengobati penyakit darah tinggi dan sakit kepala³.

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa daun alpukat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba. Penelitian yang dilakukan oleh Ismiyati (2004), ekstrak air daun alpukat konsentrasi 35% dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 9 mm⁴. Perasan daun alpukat yang diuji ke *Pseudomonas sp* pada konsentrasi 100; 80; 60; 40 dan 20% menghasilkan diameter zona hambat masing-masing sebesar 23; 20; 16; 14 dan 11 mm⁵. Menurut Nilda, dkk. (2011) kemampuan antibakteri yang dimiliki oleh daun alpukat dimungkinkan karena adanya metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid dan, saponin⁶.

Cut Riska Andriani dan Frida Oesman adalah Dosen Bagian Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala Banda Aceh, Risa Nursanty adalah Dosen Bagian Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala Banda Aceh

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya terlihat adanya potensi antibakteri yang dimiliki daun alpukat, sehingga pada penelitian ini bermaksud untuk mengkaji lebih lanjut kemampuan ekstrak etil asetat daun alpukat dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alat-alat gelas, timbangan analitik, batang pengaduk, kertas saring, autoklaf, *hot plate*, *oven*, cawan petri, pipet tetes, jarum inokulasi, bunsen, botol kaca, jangka sorong, spektrofotometer dan tabung reaksi.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya pelarut etil asetat, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *cotton bud* steril, Nutrien Agar (NA), kertas cakram kosong, kertas cakram antibiotik streptomisin, dan isolat bakteri *S. aureus*.

2.2. Metode Kerja

1. Persiapan Simplisia

Tanaman alpukat diidentifikasi di LIPI, Bogor. Tujuan dari diidentifikasi ini untuk mengetahui taksonomi daun alpukat yang digunakan dalam penelitian ini. Teknik pengambilan daun alpukat secara *proposive sampling*. Sampel daun alpukat berasal dari Saree, Aceh Besar. Daun alpukat yang dipilih adalah daun yang berwarna hijau tua.

2. Pembuatan Simplisia

Daun alpukat sebanyak 2 kg disortasi basah agar terhindar dari kontaminan yang tidak diinginkan. Daun alpukat di cuci dibawah air mengalir. Daun alpukat dikeringanginkan selama 21 hari sampai daun alpukat menjadi kering yang selanjutnya dicacah halus kemudian diayak dengan mesh no. 40 (BPOM, 2013).

3. Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat

Simplisia daun alpukat sebanyak 200 g direndam dengan 1,5 L etil asetat selama 5 hari dan sesekali diaduk, selanjutnya disaring. Ampas yang dihasilkan kembali direndam dengan 1,5 L etil asetat selama 2 hari dengan sesekali diaduk, kemudian disaring. Hasil maserat digabung, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapat ekstrak etil asetat daun alpukat.

4. Penyiapan Suspensi Bakteri

S. aureus diambil sebanyak satu jarum inokulasi kemudian dilarutkan dalam 5 mL larutan NaCl 0,9%. Suspensi bakteri ini selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex selama 15 detik kemudian dimasukkan dalam kuvet sebanyak 750 μ L dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm, setara dengan standar *McFarland* 0,5 (10^8 CFU/mL)⁷.

5. Uji Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat Menggunakan Metode Difusi Kertas Cakram

Sebanyak 0,1 mL suspensi *Staphylococcus aureus* disebarkan dalam cawan berisi media MHA menggunakan swab steril. Selanjutnya dalam masing-masing cawan diletakkan kertas cakram yang telah mengandung ekstrak etil asetat daun alpukat sebanyak 20 μ L dengan konsentrasi 15; 20; 25; 30 dan 35%, kontrol negatif pelarut etil asetat dan kontrol positif menggunakan streptomisin 30 μ g. Semua perlakuan dilakukan sebanyak empat ulangan. Masing-masing cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, diukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm).

6. Uji Fitokimia terhadap Ekstrak

6.1 Uji Flavonoid

Ekstrak etil asetat daun alpukat ditimbang 2 g dan ditambahkan dengan 10 mL n-heksan selama 10 menit kemudian

disaring. Residu yang terbentuk selanjutnya ditambahkan 10 mL metanol dan di diamkan selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 5 mL HCl. Jika larutan berubah menjadi warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

6.2. Uji Alkaloid

Sebanyak 500 mg ekstrak etil asetat daun alpukat ditimbang serta ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL aquades. Dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat dipindahkan ke dalam 3 tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorf.

Sampel positif alkaloid jika tabung reaksi yang ditambahkan larutan pereaksi Mayer akan membentuk endapan putih atau kuning. Selanjutnya tabung reaksi yang ditambahkan larutan pereaksi Bouchardat akan membentuk endapan warna coklat sampai hitam. Begitu juga tabung reaksi yang ditambahkan larutan pereaksi Dragendorf akan membentuk endapan kuning jingga.

6.3. Uji Saponin

Ekstrak etil asetat daun alpukat ditimbang 0,5g dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya di tambahkan 10 mL akuades panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm, ditambahkan 1 tetes HCl 2 N jika buih tidak hilang maka ekstrak pekat daun alpukat tersebut positif adanya saponin.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Uji Zona Hambat Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat

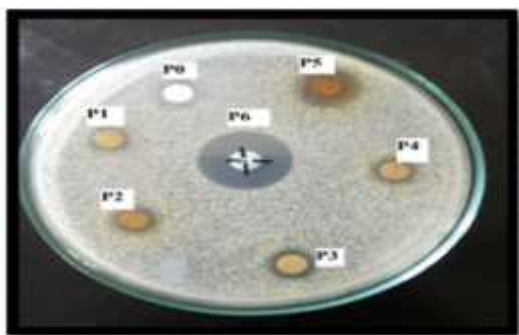
Hasil uji zona hambat ekstrak etil asetat daun alpukat dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3.1. Hasil pengamatan rata-rata diameter zona hambat ekstrak etil asetat daun alpukat

Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)
P ₀ (Kontrol negatif)	00,0 mm
P ₁ (Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 15%)	7,18 mm
P ₂ (Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 20%)	8,11 mm
P ₃ (Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 25%)	9,15 mm
P ₄ (Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 30%)	11,25 mm
P ₅ (Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 35%)	12,45 mm
P ₆ (Streptomisin 30 µg)	21,1 mm

Hasil pengamatan pada Tabel 4.2. memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etil asetat daun alpukat maka semakin besar diameter zona hambat yang dibentuk. Namun penggunaan konsentrasi tertinggi ekstrak etil asetat daun alpukat memiliki rata-rata diameter zona hambat lebih kecil dibandingkan diameter zona hambat menggunakan antibiotik streptomisin (21,1 mm). Tetapi hasil pengujian pada konsentrasi 35% memiliki diameter zona hambat lebih besar yakni 12,45 mm dibandingkan penelitian Ismiyati⁴ yang hanya menghasilkan 9,00 mm saat menguji *S. aureus* menggunakan ekstrak infusa daun alpukat. Perbedaan hasil ini dimungkinkan karena pelarut yang digunakan pada kedua penelitian tersebut berbeda. Sehingga menyebabkan adanya perbedaan metabolit sekunder yang diperoleh setelah proses maserasi.

Diameter hambatan yang diperoleh dari hasil penelitian ini dimungkinkan karena ekstrak etil asetat daun alpukat mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba. Hasil tersebut dapat diukur karena di sekitar kertas cakram memperlihatkan terbentuknya area ataupun zona bening. Ini didukung oleh Lay (1994) yang menyatakan bahwa ada beberapa faktor penyebab terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri. Salah satunya adalah kepekaan terhadap bahan antimikroba⁸. Zona hambatan yang dibentuk akibat pemberian ekstrak etil asetat daun alpukat selengkapannya dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 3.1. Zona hambatan yang terbentuk akibat pemberian ekstrak etil asetat daun alpukat terhadap *S. aureus*

Keterangan gambar:

- P₀ : Kontrol negatif
- P₁ : Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 35%
- P₂ : Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 30%
- P₃ : Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 25%
- P₄ : Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 20%
- P₅ : Ekstrak etil asetat daun alpukat konsentrasi 15%
- P₆ : Antibiotik streptomisin 30 µg

Daun alpukat mengandung senyawa metabolit sekunder. Hasil uji fitokimia memperlihatkan bahwa ekstrak etil asetat daun alpukat memiliki senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin. Selengkapannya hasil fitokimia dapat dilihat pada berikut.

Tabel 3.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Alpukat

Senyawa	Pereaksi	Hasil	
Alkaloid	Meyer	Endapan putih	positif
	Bouchardat	Endapan coklat	positif
	Dragendrof	Endapan jingga	positif
Flavonoid	Mg dan HCl	Larutan jingga	positif
Saponin	Air dan dikocok 10 detik	Busa setinggi 5 cm ditambah HCl 2 N busa tidak hilang	positif

Senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid dan saponin memiliki potensi sebagai bahan antimikroba. Ini dikuatkan oleh Heinrich (2009) yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri dengan merusak membran dan dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kematian⁹. Menurut Jawez *et al.*, (2005) dinding sel berfungsi sebagai pengatur sistem reproduksi pada bakteri sedangkan membran sel berfungsi untuk melindungi bagian dalam bakteri, oleh sebab itu jika kedua organ ini rusak maka bakteri akan mengalami kematian¹⁰. Alkaloid memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan negatif dengan cara menghambat sintesis DNA bakteris. Senyawa saponin memiliki mekanisme kerja dalam menghambat bakteri dengan cara berikatan pada senyawa kompleks polisakarida di dinding sel, sehingga terjadi kerusakan dinding sel dari bakteri tersebut¹¹.

4. Kesimpulan

Ekstrak etil asetat daun alpukat memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*

5. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

Daftar Pustaka

1. Ibrahim, S. *Pemeriksaan Kandungan Kimia Aktif Tanaman Kacang-Kacangan*. Disunting oleh T.S. Kusuma dalam Kimia dan Lingkungan. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang. 1988.
2. Letje, W., Rini, M., Bayu, F. P., dan Dian, F. Gambaran Serum Ureum dan Kreatinin pada Tikus Putih yang Diberi Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat. *Jurnal Veteriner*. 2012. 13 (1): 57-62.
3. Zuraidhah. *Etnofarmakologi Tumbuhan Oleh Masyarakat Pesisir Di Kabupaten Pidie*. Skripsi. Fakultas Ilmu Pengetahuan dan Matematika Unibersitas Syiah Kuala. Banda Aceh. 2008.
4. Ismiyati, N. Pengembangan Formulasi Masker Ekstrak Air Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* Untuk Pengobatan Jerawat. Skripsi. Farmasi Poltekkes Bhakti Setya Indonesia. Yogyakarta. 2014.
5. Safwan, H. Uji Sentivitas Perasan Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Pseudomonas* sp Metode Invitro. Skripsi. Akademi Analisis Kesehatan. Banda Aceh. 2012.
6. Nilda, A. P., Nurhayati, B., Nita, S. *Isolasi dan Karakteristik Senyawa Alkaloid dari Daun Alpukat (Persea americana Mill.)*. Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas MIPA. Universitas Negeri Gorontalo. 2011.
7. WHO. *Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in Developing Word*. Switzerland. 2003.
8. Lay, B., W. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Rajawali Press. Jakarta
9. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. & Williamson, E. M. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Diterjemahkan oleh Syarief, W. R., Aisyah, C., Elviana, E., & Fidiasari, E. R. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1994.
10. Jawetz,., Melrick,., and Adelberg,., *Mikrobiologi Kedokteran edisi 23*. Terjemahan dari Medical's Microbiology. Twenty Third Edition oleh Hartanto. Penerbit EGC. Jakarta. 2005.
11. Dzulkarnain, B., D. Sondari. dan A, Chozin. *Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia*. *Cermin Dunia Kedokteran*. 1996. 110: 35-48.