

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi, Kedudukan Taksonomi, dan Pemanfaatan Tumbuhan Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Alpukat (*Persea americana* Mill) berasal dari Amerika Tengah. Tumbuhan ini masuk ke Indonesia sekitar abad ke-18. Alpukat tumbuh liar di hutan-hutan, banyak juga ditanam di kebun dan pekarangan yang lapisan tanahnya gembur dan subur serta tidak tergenang air. Tumbuh di daerah tropik dan subtropik dengan curah hujan antara 1.800 mm sampai 4.500 mm tiap tahun. Pada umumnya tumbuhan ini cocok dengan iklim sejuk dan basah. Tumbuhan ini tidak tahan terhadap suhu rendah maupun tinggi. Di Indonesia tumbuh pada ketinggian tempat antara 1 m sampai 1000 m di atas permukaan laut (Nurrasid, 1998).

Negara-negara penghasil alpukat dalam skala besar adalah Amerika (Florida, California, Hawaii), Australia, Cuba, Argentina, dan Afrika Selatan. Dari tahun ke tahun Amerika mempunyai kebun alpukat yang senantiasa meningkat. Di Indonesia, tanaman alpukat masih merupakan tanaman pekarangan, belum dibudidayakan dalam skala usahatani. Daerah penghasil alpukat adalah Jawa Barat, Jawa Timur, sebagian Sumatera, Sulawesi Selatan, dan Nusa Tenggara. Di Indonesia, alpukat banyak dikenal dengan berbagai nama diantaranya, alpuket atau alpukat (Jawa Barat), alpokat (Jawa Timur/Jawa Tengah), buah pokat/jamboo pokat (Batak), advokat/pookat (Lampung), dan apuket/jambu wolanda (Sunda) (Indriani dan Suminarsih, 1997).

Pohon alpukat tingginya 3 m sampai 10 m, berakar tunggang, batang berkayu, bulat, warnanya coklat, dan banyak bercabang. Daun tunggal letaknya

berdasarkan di ujung ranting, bentuknya memanjang, ujung dan pangkal runcing. Tepi rata kadang-kadang agak menggulung ke atas. Bunganya majemuk, buahnya buah buni, bentuk bola atau bulat telur, warnanya hijau atau hijau kekuningan. Daging buah jika sudah masak lunak, warnanya hijau dan kekuningan (Monica, 2006).

Menurut Nurrasid (1998), secara taksonomi klasifikasi lengkap tanaman alpukat adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ranales
Suku	: Lauraceae
Marga	: Persea
Jenis	: <i>Persea americana</i> Mill



Gambar 1. Buah dan pohon alpukat (Sumber : Damayanti, 2014).
(Keterangan Gambar: 1. Daging buah, 2. Biji buah, 3. Kulit buah, 4. Daun, 5. Bunga, 6. Buah, 7. Batang)

Buah alpukat memiliki biji yang berkeping dua, sehingga termasuk dalam kelas Dicotyledoneae. Biji buah alpukat berbentuk bulat atau lonjong, sedangkan keping biji berwarna putih kemerahan. Kepingan ini mudah terlihat apabila kulit bijinya dilepas atau dikuliti. Kulit biji umumnya mudah lepas dari bijinya. Pada

saat buah masih muda, kulit biji itu menempel pada daging buahnya (Indriani dan Suminarsih, 1997).

Bila buah telah tua, biji akan terlepas dengan sendirinya. Umumnya sifat ini dijadikan sebagai salah satu tanda kematangan buah. Buah yang berbentuk panjang mempunyai biji yang lebih panjang dibanding biji yang terdapat di dalam buah yang bentuk bulat. Walaupun demikian, semua biji alpukat mempunyai kesamaan, yaitu bagian bawahnya agak rata dan kemudian membulat atau melonjong (Indriani dan Suminarsih, 1997).

Hasil penapisan fitokimia ekstrak biji alpukat menunjukkan bahwa biji alpukat mengandung polifenol, flavonoid, triterpenoid, kuinon, saponin, tanin dan monoterpenoid dan seskuiterpenoid yang diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) diindikasikan memiliki daya antibakteri (Zuhrotun, 2007). Biji alpukat juga dilaporkan mengandung 59,87% pati, 12,67% air, 2,78% abu dan 0,54% mineral serta mengandung campuran komponen polifenolik seperti katekin dan epikatin (Atsuhendra, 2007). Dalam biji alpukat juga ditemukan adanya zat bitter alkaloid sehingga rasanya sangat pahit (Zuhrotun, 2007).

Bagian tanaman alpukat yang banyak dimanfaatkan adalah buahnya sebagai makanan buah segar. Selain itu pemanfaatan daging buah alpukat yang biasa dilakukan masyarakat Eropa adalah digunakan sebagai bahan pangan yang diolah dalam berbagai masakan. Dalam dunia pengobatan, alpukat telah banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit (Nurrasid, 1998). Daging buahnya bisa mengurangi rasa sakit dan mengobati

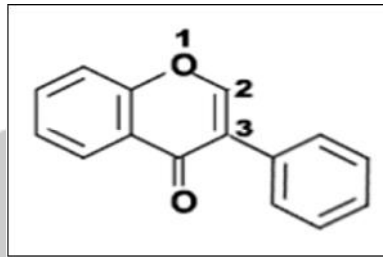
sariawan, sedangkan daun buah alpukat biasanya digunakan untuk mengobati nyeri saraf, nyeri lambung, menurunkan darah tinggi dan mengobati batu ginjal. Selain buah dan daunnya, biji buah alpukat juga bisa digunakan untuk mengurangi kadar gula dalam darah (Nurrasid, 1998).

B. Deskripsi Kandungan Kimia pada Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa biji alpukat memiliki kandungan berbagai senyawa berkhasiat (Zuhrotun, 2007). Hasil Skrining fitokimia yang dilakukan oleh Zuhrotun (2007) terhadap simplisia dan ekstrak etanol biji alpukat menunjukkan bahwa biji alpukat diantaranya mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

1. Flavonoid

Menurut Marais dkk. (2006), flavonoid biasanya digunakan untuk menjelaskan produk yang dihasilkan tanaman yang termasuk ke dalam senyawa dengan rumus kimia C₆-C₃-C₆. Senyawa flavonoid memiliki ikatan glikosida yang dapat didegradasi oleh aktivitas enzim yang didapatkan dari bahan tanaman baik dalam bentuk segar maupun kering. Ekstraksi flavonoid dibutuhkan pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. Beberapa flavonoid ada yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, flavon yang termetilasi, dan flavonol yang dapat diekstraksi dengan pelarut kloroform, diklorometana, dietil eter, atau etil asetat, namun flavonoid glikosida dan aglikone yang lebih polar dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut alkohol atau campuran alkohol-air (Marston dan Hostettmann, 2006).



Gambar 2. Struktur kimia flavonoid (Sumber: Harborne, 1987).

Menurut Harborne (1987), flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berubah bila ditambahkan senyawa yang bersifat basa atau ammonia. Flavonoid di alam merupakan senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan menggunakan etanol 70%. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid.

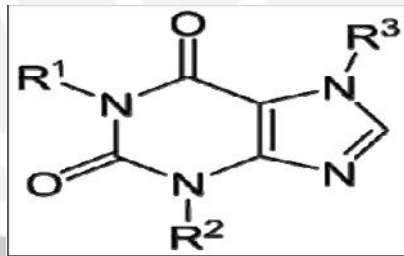
Menurut Sabir (2005), flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Adapun menurut Naim (2004), flavonoid memiliki sifat lipofilik sehingga dimungkinkan akan merusak membran sel bakteri. Senyawa tanin kemudian diduga berhubungan dengan kemampuannya dalam menginaktivasi adhesin mikroba (zat perekat yang terdapat pada fimbriae/pili), enzim, dan protein transport pada membran sel.

2. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersebar pada tanaman. Pada tanaman, alkaloid berfungsi sebagai senyawa pertahanan baik terhadap herbivora atau predator. Beberapa alkaloid dapat bersifat antibakteri, antifungi, dan antivirus, yang dapat bersifat racun bagi binatang. Alkaloid pada tanaman dapat menjadi senyawa herbisida bagi tanaman lain untuk mengurangi adanya persaingan. Lebih dari 21.000 alkaloid telah teridentifikasi, kelompok

terbesar dari alkaloid adalah metabolit sekunder yang mengandung nitrogen (Wink, 2008).

Menurut Harborne (1987), alkaloid merupakan golongan zat sekunder atau metabolit sekunder tumbuhan terbesar. Pada umumnya alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa, dengan struktur alkaloid yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, yang biasanya berbentuk gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid biasanya tidak memiliki warna, sering bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal dan hanya sedikit yang berbentuk cairan (contoh nikotina) pada suhu kamar.



Gambar 3. Struktur kimia alkaloid (Sumber: Harborne, 1987).

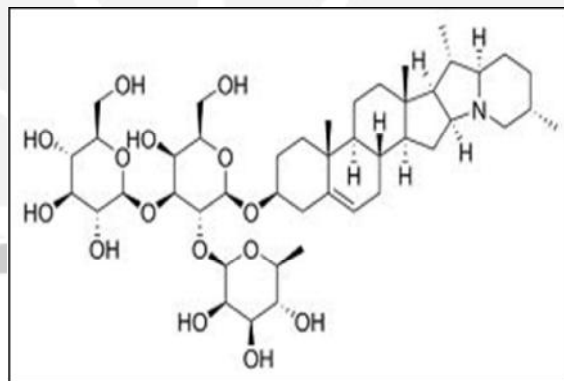
Alkaloid di dalam kehidupan banyak yang bersifat racun bagi manusia namun banyak senyawa alkaloid yang digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Manusia seringkali menggunakan alkaloid yang diisolasi dari tumbuhan sebagai obat. Alkaloid memiliki efek dalam bidang kesehatan dalam memicu sistem saraf pusat, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, serta obat penyakit jantung (Simbala, 2009).

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Peptidoglikan merupakan senyawa yang berfungsi untuk membuat dinding sel tetap kaku sehingga memberi bentuk sel yang tetap. Apabila komponen penyusun

peptidoglikan terganggu, lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Robinson, 1995).

3. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai 5 dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang mantap sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987).



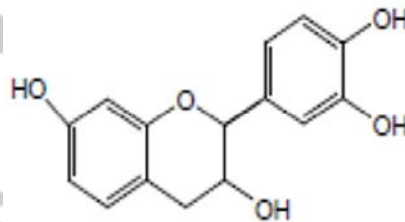
Gambar 4. Struktur kimia saponin (Sumber: Harborne, 1987).

Beberapa saponin bekerja sebagai antibakteri dan saponin tertentu menjadi penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik. Saponin digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan (Robinson, 1995). Saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan bakteri, maka bakteri tersebut akan pecah atau lisis (Ganiswarna, 2003). Hal ini dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan

Poeloengan dkk. (2006), buah manggis yang mengandung saponin mampu menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa kompleks yang banyak terdapat pada tumbuhan, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar untuk dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal. Di dalam tumbuhan letak tanin terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi bila jaringan tumbuhan rusak maka reaksi penyamakan dapat terjadi. Reaksi ini menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan pemakan tumbuhan. Salah satu fungsi utama tanin yaitu sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan karena rasanya yang sepat (Harborne, 1987). Tanin dapat meringankan diare dengan menciutkan selaput lendir usus (Tjay dan Rahardja, 1991).



Gambar 5. Struktur kimia tanin (Sumber: Harborne, 1987).

Tanin dapat menyebabkan denaturasi protein dengan membentuk kompleks dengan protein melalui kekuatan non-spesifik seperti ikatan hidrogen dan efek hidrofobik sebagaimana ikatan kovalen, menginaktifkan adhesin kuman (molekul untuk menempel pada sel inang), dan menstimulasi sel-sel fagosit yang berperan dalam respon imun seluler (Chisnaningsih, 2006). Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak membran pada sel bakteri. Tanin menyebabkan membran sel bakteri mengkerut sehingga menyebabkan

permeabilitas sel bakteri. Akibatnya, metabolisme bakteri terganggu dan akhirnya lisis dan mati (Ajizah, 2004).

C. Pengertian dan Jenis-jenis Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses memisahkan senyawa terlarut (*solut*) ke dalam pelarut (*solvent*). Senyawa yang bersifat anorganik atau disebut senyawa polar dapat terlarut oleh pelarut polar, sedangkan senyawa organik atau non-polar dapat terlarut oleh pelarut non-polar. Sifat tersebut dikenal dengan istilah *like dissolve like* (Pecsok dkk., 1976). Menurut Harborne (1987), ekstraksi yang tepat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan jenis senyawa yang diisolasi. Umumnya sebelum dilakukan ekstraksi, pencegahan akan oksidasi maupun hidrolisis senyawa dalam tumbuhan perlu dilakukan dengan cara pengeringan atau perendaman dengan etanol mendidih.

Pengeringan tumbuhan dilakukan dalam keadaan terawasi untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang terlalu banyak. Tumbuhan yang dikeringkan harus dilakukan secepat-cepatnya, tanpa menggunakan suhu tinggi (di atas 60⁰C) dan memiliki aliran udara yang baik. Setelah tumbuhan kering, tumbuhan dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama (3-6 bulan) sebelum dianalisis (Harborne, 1987). Ekstraksi menggunakan pelarut yang sedikit (dibawah 1000 ml pelarut) dan dilakukan berulang kali akan menghasilkan hasil ekstraksi yang lebih baik daripada ekstraksi satu kali dengan pelarut yang banyak (diatas 1000 ml pelarut) (Pecsok dkk., 1976).

Menurut Agoes (2007), ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya menggunakan *menstrum* (pelarut atau campuran pelarut) dan larutan

ekstrak yang diperoleh disebut dengan *micella*. Pembuatan ekstrak dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya adalah maserasi yaitu metode penyarian simplisia yang dapat menggunakan bermacam-macam pelarut pada suhu kamar (20-25 °C) selama waktu tertentu (24-72 jam). Simplisia dalam keadaan serbuk yang halus akan lebih mudah diekstraksi jika dibandingkan dengan simplisia utuh. Pembuatan serbuk pada simplisia akan menjadikan ukuran partikel dari simplisia tersebut semakin kecil. Apabila ukuran partikel simplisia semakin kecil, maka luas permukaan simplisia yang terkena pelarut akan semakin besar dan semakin banyak pula rongga yang terbentuk, sehingga membantu penetrasi pelarut ke dalam sel tumbuhan dan semakin banyak zat aktif yang terdapat pada simplisia akan larut dalam pelarut (Hukmah, 2007).

Metode ekstraksi dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu ekstraksi sederhana dan ekstraksi khusus. Ekstraksi sederhana terdiri dari maserasi, perkolasi, reperiolasi, evakolasi, dan dialokasi. Ekstraksi khusus terdiri dari sokletasi, arus balik, dan ultrasonik (Harborne, 1987). Ekstraksi sederhana merupakan ekstraksi menggunakan pelarut namun tidak menggunakan tambahan perlakuan lain seperti panas seperti maserasi yang dapat disebut dengan ekstraksi dingin, sedangkan ekstraksi khusus menggunakan perlakuan lain seperti pemanasan, atau pemecahan sel menggunakan ultrasonik dalam mendapatkan senyawa yang diinginkan (Moelyono, 1996).

Maserasi digunakan untuk mengekstrak sampel yang relatif tidak tahan panas. Metode ini dilakukan hanya dengan merendam sampel dalam suatu pelarut dengan lama waktu tertentu, biasanya dilakukan selama sehari semalam (24 jam)

tanpa menggunakan pemanas. Kelebihan metode maserasi diantaranya metodenya sederhana, tidak memerlukan alat yang rumit, relatif murah, dan dengan metode ini dapat menghindari kerusakan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas sehingga baik untuk sampel yang tidak tahan panas. Kelemahan metode ini antara lain adalah dari segi waktu yang lebih lama dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut yang digunakan relatif banyak (Meloan, 1999).

D. Deskripsi Sifat Pelarut pada Proses Ekstraksi

Dalam ekstraksi dapat digunakan berbagai macam pelarut, akan tetapi penggunaan pelarut toksik harus dihindari. Pelarut toksik adalah pelarut yang mempunyai potensi bahaya terhadap kesehatan, produktivitas, dan efisiensi di lingkungan kerja dan industri. Contoh pelarut yang bersifat toksik adalah metanol. Metanol dapat menyebabkan sesak nafas apabila terhirup dalam jarak yang sangat dekat (Santosa, 1995). Pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi senyawa dapat dipertimbangkan berdasarkan suhu didihnya agar mudah dihilangkan (Agoes, 2007). Menurut Pecsok dkk. (1976), ekstraksi dapat memisahkan dua hingga lebih senyawa tergantung pada perbedaan dalam koefisien penyebaran (*distribution coefficients*) atau konstanta dielektrikum (*Dielectric Constant*) yang dimiliki pelarut tersebut.

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektrikum dapat dibedakan menjadi dua, yaitu

pelarut polar dan pelarut non-polar Semakin tinggi konstanta dielektrikurnya maka pelarut semakin bersifat polar (Sudarmadji dkk., 1989). Besaran konstanta dielektrikum suatu pelarut dapat ditunjukkan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Konstanta dielektrikum pelarut organik

Pelarut	Konstanta dielektrikum (D)
n-heksana	1,89
Petroleum eter	1,90
n-oktan	1,95
n-dekan	1,99
n-dodekan	2,01
n-toulen	2,38
Etil-asetat	6,08
Etanol	24,30
Metanol	33,60
Asam formiat	58,50
Air	80,40

Sumber: Sudarmadji dkk. (1989)

Pelarut organik yang umum digunakan untuk memproduksi konsentrat, ekstrak, absolut atau minyak atsiri dari bunga, daun, biji, akar, dan bagian lain dari tanaman adalah etil asetat, n-heksana, petroleum eter, benzen, toluen, etanol, isopropanol, aseton, dan air (Mukhopadhyay, 2002). Titik didih beberapa pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Titik Didih Pelarut

No	Pelarut	Titik Didih (°C)
1	Dietil eter	34,6
2	Diklorometan	40,8
3	n-heksana	68,7
4	Aseton	56,2
5	Etil-asetat	77,1
6	Etanol	78,3
7	Air	100

Sumber: Mukhopadhyay (2002)

Menurut Hukmah (2007), ada dua pertimbangan dalam memilih jenis pelarut yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak

berbahaya dan beracun. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil asetat, etanol, n-heksana, isopropil alkohol, dan metanol. Penelitian ini menggunakan 3 variasi pelarut yaitu pelarut non-polar (n- heksana), semi-polar (etil asetat) dan polar (etanol). Penggunaan tiga pelarut yang berbeda kepolaritasannya diharapkan akan diperoleh pelarut yang optimum dalam mengekstrak biji alpukat.

N-heksana adalah sebuah senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia C_6H_{14} (isomer utama n-heksana memiliki rumus $CH_3(CH_2)_4CH_3$). N-Heksana merupakan jenis pelarut non-polar (Maulida, 2010). N-Heksana dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak nilam yang dapat digunakan sebagai minyak atsiri (Maulida, 2010).

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus $CH_3COOC_2H_5$. Senyawa ini merupakan ester dari etanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat diproduksi dalam skala besar sebagai pelarut. Etil asetat adalah pelarut polar menengah atau semi-polar yang *volatil* (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis (Hukmah, 2007).

Menurut Hukmah (2007), etil asetat yang juga dikenal dengan nama *acetic ether* adalah pelarut yang banyak digunakan pada industri cat, *thinner*, tinta, plastik, farmasi, dan industri kimia organik. Pada skala industri, etil asetat diproduksi dari reaksi esterifikasi antara asam asetat (CH_3COOH) dan etanol (C_2H_5OH) dengan bantuan katalis dalam suasana asam (H_2SO_4) dan mengikuti reaksi berikut: $C_2H_5OH + CH_3COOH \rightarrow CH_3COOCH_2CH_3 + H_2O$.

Etanol termasuk dalam alkohol primer, yang berarti bahwa karbon yang berikatan dengan gugus hidroksil paling tidak memiliki dua atom hidrogen yang terikat dengannya juga. Reaksi kimia yang dijalankan oleh etanol kebanyakan berikatan pada gugus hidroksilnya (Lei dkk., 2002). Etanol termasuk dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O . Etanol merupakan isomer konstitusional dari dimetil eter. Etanol sering disingkat menjadi EtOH, dengan "Et" merupakan singkatan dari gugus etil (C_2H_5) (Lei dkk., 2002).

E. Pengertian dan Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa kimia yang berfungsi untuk mengontrol pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Antibakteri dapat ditemukan secara alamiah di alam, dapat pula disintesis, maupun gabungan dari keduanya. Senyawa antibakteri dapat dibagi menjadi tiga berdasarkan keaktifannya membunuh maupun menghambat, antara lain bakteriosida, bakteriostatik dan bakteriolitik (Perry dkk., 2002). Kemampuan suatu senyawa dalam membunuh bakteri disebut dengan bakteriosida, yang berasal dari bahasa Latin *cida* yang berarti "memiliki kekuatan untuk membunuh". Senyawa lain yang memiliki kemampuan bukan untuk membunuh melainkan menghambat pertumbuhan bakteri disebut senyawa bakteriostatik. Senyawa yang terakhir memiliki kemampuan dalam memecah atau melisiskan sel bakteri disebut dengan bakteriolitik (Perry dkk., 2002).

Antibakteri dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu menghambat metabolisme sel, sintesis dinding sel, mengganggu

keutuhan membran sel, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat bakteri. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel dengan cara mengganggu atau menghambat metabolisme sel untuk menghasilkan asam folat dan asam paraaminobenzoat (PABA) yang sangat dibutuhkan bakteri untuk kelangsungan hidupnya. Penghambatan dilakukan dengan dua cara yaitu dengan penggabungan antibakteri dengan PABA sehingga terbentuk asam folat yang non-fungsional, atau dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase sehingga asam dihidrofolat tidak dapat tereduksi menjadi asam tetrahidrofolat (THFA) yang merupakan bentuk aktif dari asam folat (Yuningsih, 2007).

Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel yaitu dengan menghambat sintesis peptidoglikan yaitu suatu kompleks glikopeptida yang menyusun dinding sel, dengan cara menghambat sintesis dari awal pembentukan dinding sel. Antibakteri mengganggu keutuhan membran sel dengan cara bereaksi dengan fosfat dan fosfolipid dari membran sehingga kadar fosfornya menurun. Hal ini dapat mengubah tegangan permukaan dan dapat memengaruhi permeabilitas selektif dari bakteri (Yuningsih, 2007).

Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel dengan cara terikatnya antibakteri dengan ribosom 30S, menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis akibatnya akan menghalangi kompleks tRNA asam amino pada lokasi sintesis. Cara lainnya adalah antibakteri berikatan dengan ribosom 50S yang menyebabkan terhambatnya pengikatan asam amino baru pada rantai polipeptida oleh enzim transferase. Antibakteri lain yang dapat

menghambat sintesis asam nukleat dengan cara berikatan dengan enzim RNA polymerase sehingga menghambat sintesis RNA dari DNA (Yuningsih, 2007).

Manfaat dari senyawa antibakteri salah satunya adalah untuk membunuh bakteri yang hadir dalam tubuh manusia atau hewan hidup lainnya. Bakteri setelah masuk ke dalam tubuh manusia, akan menggunakan tubuh sebagai inang dan mulai berkembang biak, hal ini menimbulkan penyakit dan infeksi. Antibakteri membunuh bakteri yang hadir dalam tubuh dan juga menghilangkan penyakit. Antibakteri yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas (racun) selektif yang setinggi mungkin. Artinya, antibakteri tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk inang/hospes (Perry dkk., 2002).

Antibiotik merupakan substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme, yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bahkan hingga membunuh bakteri dan mikroorganisme lain dalam suatu larutan. Antibiotik memiliki toksisitas selektif pada beberapa tipe sel hidup dan kurang pada sel lainnya. Beberapa antibiotik memiliki efek terhadap bakteri terbatas sehingga disebut dengan antibiotik *narrow-spectrum*. Salah satu contoh antibiotik *narrow-spectrum* adalah *penicillin* yang biasanya efektif pada bakteri dengan sifat Gram positif. Sedangkan antibiotik yang dapat menghambat bakteri Gram positif dan negatif adalah antibiotik dengan sifat *broad spectrum*, seperti tetrasiklin, ampicilin (Perry dkk., 2002).

Ampicilin adalah antibiotik golongan penisilin (turunan penisilin). Ampicilin memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram

negatif. Ampisilin tergolong dalam antibiotik β -laktam. Perbedaan antara penisilin dan ampisilin terletak pada gugus aminonya. Pada ampisilin gugus amino membantu ampisilin menembus membran terluar dari bakteri (Siahaan, 2007).

Mekanisme kerja ampisilin yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida dengan menghambat kerja enzim transpeptidase. Kemudian karena sintesis dinding sel terganggu maka bakteri tersebut tidak mampu mengatasi perbedaan tekanan osmosis di luar dan di dalam sel. Hal ini yang mengakibatkan bakteri mati dan sel lisis (Siahaan, 2007).

F. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. *Disc diffusion test* atau uji difusi cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak (Hermawan dkk., 2007).

Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu silinder, lubang/sumuran, dan cakram kertas (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Metode silinder yaitu meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat di atas medium agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan sedemikian rupa hingga berdiri di atas medium agar, diisi dengan larutan yang akan diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

Metode cakram kertas yaitu meletakkan cakram kertas yang telah direndam larutan uji di atas medium padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling cakram (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksi dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmiyati dan Agustini, 2006).

Prinsip dari metode ini adalah penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, yaitu zona hambat akan terlihat jernih di sekitar cakram kertas yang mengandung zat antibakteri. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan sensitivitasnya terhadap zat anti yang digunakan. Selanjutnya, dikatakan bahwa semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk berarti bakteri tersebut semakin sensitif (Gaman dan Sherrington, 1992). Menurut Pelczar dan Chan (1986), zona hambat merupakan tempat bakteri terhambat pertumbuhannya akibat senyawa antibakteri.

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam medium cair. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah

konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tertentu (Jawetz dkk., 1995). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada medium cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 19-24 jam. Medium cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *Minimal Bactericidal Concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).

G. Karakteristik, Kedudukan Taksonomi, dan Sifat Bakteri *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae*

Bacillus cereus merupakan golongan bakteri Gram-positif (bakteri yang mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram), aerob fakultatif (dapat menggunakan oksigen tetapi dapat juga menghasilkan energi secara anaerobik), dan dapat membentuk spora (endospora). Spora *Bacillus cereus* lebih tahan pada panas kering daripada pada panas lembab dan dapat bertahan lama pada produk yang kering. Selnya berbentuk batang besar (*bacillus*) dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya (Arisman, 2009).

Bacillus cereus merupakan bakteri yang sering menjadi penyebab penyakit diare dan keracunan makanan. *Bacillus cereus* merupakan organisme yang berasal dari tanah yang sering mengkontaminasi nasi atau mie (Lancette dan Harmon, 1980). Bentuk penyakit bermanifestasi sebagai mual, muntah, kejang otot, dan diare. Manifestasi terjadi 1-16 jam setelah makan nasi atau mie yang terkontaminasi *Bacillus cereus* (Lancette dan Harmon, 1980).

Ada dua tipe toksin yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus*, yaitu toksin yang menyebabkan diare (disebabkan oleh protein dengan berat molekul besar)

dan toksin yang menyebabkan muntah atau emesis (disebabkan oleh peptida tahan panas dengan berat molekul rendah). Tipe penyebab diare (*diarrheal form*) merupakan tipe yang paling ditemukan kasusnya. Gejala yang timbul berhubungan dengan saluran pencernaan bagian bawah berupa mual, nyeri perut seperti kram, diare berair, yang terjadi 8-16 jam setelah mengkonsumsi pangan yang telah terkontaminasi *Bacillus cereus*. Pada sebagian besar kasus gejala-gejala ini akan tetap berlangsung selama 12 – 24 jam tetapi untuk beberapa kasus akan lebih lama (Lancette dan Harmon, 1980).

Pada tipe penyebab muntah (*emetic form*) gejala yang timbul akan bersifat lebih parah dan akut serta berhubungan dengan saluran pencernaan bagian atas, berupa mual dan muntah yang dimulai 1 - 6 jam setelah mengkonsumsi pangan yang terkontaminasi oleh *Bacillus cereus*. Umumnya gejala terjadi selama kurang dari 24 jam (Lancette dan Harmon, 1980).

Menurut Brooks dkk. (2005), kedudukan taksonomi *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: Bacillus
Jenis	: <i>Bacillus cereus</i>

Vibrio cholerae adalah bakteri Gram-negatif pleomorfik (bentuk kurva atau lurus), batang pendek, motil dengan flagela polar. Sel-sel bersifat katalase dan oksidase-positif, serta anaerobik fakultatif. Kadar optimum untuk pertumbuhan spesies yang penting secara klinis adalah 1–3%. Pertumbuhan

Vibrio cholerae enteropatogenik berlangsung optimum pada suhu 37°C dengan kisaran tumbuh antara suhu 5 – 43°C. Bila kondisi mendukung, *Vibrio cholerae* dapat tumbuh ekstrim cepat (Hidayati, 2010).

Vibrio cholerae banyak ditemukan di permukaan air yang terkontaminasi dengan feces yang mengandung bakteri tersebut, oleh karena itu penularan penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini dapat melalui air, makanan, dan sanitasi yang buruk (Hidayati, 2010). *Vibrio cholerae* dapat menyebabkan diare yang menimbulkan dehidrasi berat. Kematian dapat terjadi setelah 3–4 jam pada pasien yang tidak dirawat. Toksin kolera dapat memengaruhi transpor cairan pada usus halus dengan meningkatkan cAMP, sekresi, dan menghambat absorpsi cairan. Penyebaran kolera dari makanan dan air yang terkontaminasi. Gejala awal adalah distensi abdomen dan muntah, yang secara cepat menjadi diare berat, diare seperti air cucian beras (Zein dkk, 2004).

Menurut Brooks dkk. (2005), kedudukan taksonomi *Vibrio cholerae* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bakteria
Filum	: Proteobakteria
Kelas	: Gammaproteobakteria
Bangsa	: Vibrionales
Suku	: Vibrionaceae
Marga	: <i>Vibrio</i>
Jenis	: <i>Vibrio cholera</i>

H. Hipotesis

1. Ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae*.

2. Pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholera*.
3. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) paling baik terhadap kedua bakteri uji adalah 6,25 - 12,5%.

