

JURNAL

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI ALPUKAT (*Persea
americana* Mill.) TERHADAP *Bacillus cereus* DAN *Vibrio cholerae*
DENGAN VARIASI PENGEKSTRAK**

Disusun oleh :

Vivekananda Vinsensius Benget

NPM : 120801301



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2016**

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BIJI ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) TERHADAP *Bacillus cereus* DAN *Vibrio cholerae* DENGAN VARIASI PENGEKSTRAK

Antibacterial Activities Test of Avocado Seed Extract (*Persea americana* Mill.) Against *Bacillus cereus* and *Vibrio cholerae* with Solvent Variation

Vivekananda Vinsensius Benget¹, B. Boy Rahardjo Sidharta¹, F. Sinung Pranata¹

Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta
Jalan Babarsari 44, Yogyakarta 55281
Nandatampubolon44@gmail.com

ABSTRAK

Komponen fitokimia dari biji buah *Persea americana* terdiri dari golongan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin, yang juga merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya kemampuan dalam ekstrak biji buah *Persea americana* dalam menghambat *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae*. Variasi dari pengekstrak bertujuan untuk melihat pelarut yang paling maksimal dalam menarik senyawa fitokimia dari biji buah alpukat sebagai antibakteri. Penelitian ini menggunakan parameter uji berupa Zona Hambat dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Proses penarikan senyawa fitokimia dalam biji buah alpukat menggunakan metode maserasi dengan variasi pelarut yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksan. Hasil ekstrak ketiga pelarut dipekatkan menjadi bentuk pasta dan diujikan pada mikrobia uji melalui metode difusi agar (sumuran) untuk mengetahui zona hambat yang terbentuk. Hasil analisis menggunakan ANAVA dan DMRT dengan SPSS 15.0 menunjukkan bahwa ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol pada bakteri *Bacillus cereus* menghasilkan zona hambat terbesar (4,1900 cm²) dibandingkan dengan pelarut etil asetat (1,8560 cm²) dan pelarut n-heksan (1,3900 cm²) dengan adanya beda nyata dengan kontrol positif ampisilin (0,9500 cm²) pada tingkat kepercayaan 95%. Pada bakteri *Vibrio cholerae* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji alpukat merupakan hasil terbaik dengan zona hambat paling besar pada bakteri uji ini (3,2360 cm²) dibandingkan dengan pelarut etanol (0,9520 cm²) dan pelarut n-heksan (0,6560 cm²) dengan adanya beda nyata dengan kontrol positif ampisilin (0,9500 cm²) pada tingkat kepercayaan 95%. Pengujian KHM dilakukan dengan metode dilusi tabung. Hasil pengujian KHM menunjukkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 3,625% terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etil asetat biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 6,25% terhadap bakteri *Vibrio cholerae*.

Kata kunci: *Persea americana* Mill., ekstrak biji, antibakteri, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, zona hambat, KHM, skrining fitokimia.

ABSTRACT

Phytochemical components of *Persea americana* fruit seeds consisting of alkaloids, flavonoids, tannins and saponins, which is also a potential as an antibacterial compound. This research aims to determine the ability of the *Persea americana* seed extract in inhibiting *Bacillus cereus* and *Vibrio cholerae*. Variations of extracting solvent which aims to see the maximum in attracting phytochemical compounds from the seeds of avocado as an antibacterial. This research uses a test parameter form Inhibition zone and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC). The process of withdrawal of phytochemical compounds in the seeds of avocado using maceration method with variation of solvent is ethanol, ethyl acetate and n-hexane. The results of the third solvent extract was concentrated into a paste and tested in microbial testing by the agar diffusion method (wells) to determine the inhibition zone is formed. The results of the analysis using ANOVA and Duncan Multiple with SPSS 15.0 showed that the avocado seed extract with ethanol on the *Bacillus cereus* produces the largest inhibition zone (4.1900 cm^2) as compared with the solvent ethyl acetate (1.8560 cm^2) and the solvent n-hexane ($1,3900 \text{ cm}^2$) with the significant difference with the positive control ampicillin (0.9500 cm^2) at 95% confidence level. At the *Vibrio cholerae* showed that the ethyl acetate extract avocado seed is the best result with the greatest inhibition zone in this test (3.2360 cm^2) as compared to ethanol (0.9520 cm^2) and the solvent n-hexane (0.6560 cm^2) with the significant difference with the positive control ampicillin (0.9500 cm^2) at 95% confidence level. MIC Testing conducted by the tube dilution method. The test results showed Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ethanol extracts of avocado seeds (*Persea americana* Mill.) Amounted to 3.625% of the *Bacillus cereus*. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of ethyl acetate extract of avocado seeds (*Persea americana* Mill.) By 6.25% against *Vibrio cholerae*.

Keywords: *Persea americana* Mill., Seed extract, antibacterial, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, inhibition zone, MIC, phytochemical screening.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya dengan keanekaragaman hayatinya dan menduduki peringkat lima besar di dunia dalam hal keanekaragaman tumbuhan, dengan 38.000 spesies tumbuhan dan 55 % diantaranya merupakan endemik di Indonesia (Indriani dan Suminarsih, 1997). Tumbuhan-tumbuhan tersebut diketahui sekitar 1300 spesies telah digunakan sebagai tumbuhan obat dan 180 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional. Pemanfaatan tanaman obat berbahan alami (TOBA) sebagai pengobatan tradisional oleh masyarakat Indonesia baik pelengkap atau alternatif untuk obat-obatan telah meningkat. TOBA dinilai memiliki efek samping lebih kecil bila dibandingkan dengan obat berbahan dasar kimia, selain itu harganya yang murah, dan mudah didapat (Indriani dan Suminarsih, 1997).

Alpukat (*Persea americana* Mill.) adalah buah yang umumnya dikenal sebagai alpukat yang tumbuh di seluruh daerah tropis. Alpukat merupakan buah yang banyak digemari oleh masyarakat Indonesia (Indriani dan Suminarsih,

1997). Menurut data Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2014), buah alpukat yang diproduksi pada tahun 2014 di Indonesia berjumlah 307.318 ton yang bersumber sebagian besar dari daerah penghasil utama buah alpukat seperti Jawa Barat, Jawa Timur, sebagian Sumatera, Sulawesi Selatan, dan Nusa Tenggara. Umumnya buah alpukat memiliki daging buah tebal berwarna hijau kekuningan dengan biji di tengahnya berwarna kecoklatan (Indriani dan Suminarsih, 1997).

Biji alpukat diketahui memiliki efek hipoglikemik dan dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit gigi, maag kronis, hipertensi dan diabetes melitus (Monica, 2006). 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).

Sementara itu dengan berkembangnya ilmu dan teknologi, maka semakin berkembang pula pengetahuan tentang penyakit dan pengendaliannya. Sampai saat ini penyakit infeksi pada manusia yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen merupakan permasalahan kesehatan yang cukup serius dan pengobatan dilakukan dengan pemberian antibiotik (Utami, 2012). Bukti ilmiah yang ada mengindikasikan bahwa kontaminasi bakteri merupakan penyebab umum yang sering menyebabkan gangguan pada saluran pencernaan. Salah satu penyebab penyakit tersebut adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Radji, 2011).

Penyakit yang menyebabkan gangguan pada saluran pencernaan salah satunya adalah diare. Menurut data Badan Kesehatan Dunia (WHO), diare adalah penyebab nomor satu kematian balita di seluruh dunia. Di Indonesia, setiap tahun 100.000 balita meninggal karena diare. Faktor penyebab terjadinya diare antara lain infeksi bakteri patogen diantaranya adalah *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* (Hidayati, 2010).

Pemakaian antibiotik dapat menyebabkan mikroorganisme patogen menjadi resisten. Pemakaian antibiotik yang tidak tepat untuk pengobatan infeksi bakteri dapat memunculkan berbagai masalah setelah puluhan tahun pemakaiannya yaitu dapat menimbulkan resistensi terhadap antibiotik (Green, 2005). Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik memberikan peluang besar untuk mendapatkan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari biji alpukat ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri, pelarut optimum, dan konsentrasi hambat minimum ekstrak biji alpukat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* yang bersifat Gram positif dan *Vibrio cholerae* yang bersifat Gram negatif.

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, *petridish*, jarum ose, erlenmeyer, gelas ukur, gelas beker, *laminair*

air flow ESCO, autoklaf STMN-Y222 OMRON, *microwave* Panasonic, inkubator Memmert, *rotary evaporator* RV06-ML KIKA WERKE, inkubator *shaker* JSR-JSSI-300C, spektrofotometer UV-1800 Shimadzu, pinset, pipet tetes, pipet ukur, pro pipet, mikropipet BIOHIT, tips, timbangan elektrik AL204, lampu spirtus, *vortex* 3760 Mixer Termolyne, kapas, karet, ayakan, trigalski, perforator, tissue, korek api, *waterbath* Memert, aluminium foil, *blender* Cosmos, labu takar, kuvet, corong pisah, stirrer magnetic, kertas label, kertas payung, penjepit kayu, pisau, penggaris, kertas saring, plastik *wrap*, dan tempat pembuangan tip.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji alpukat dari buah alpukat sebanyak 370 g dari buah alpukat sebanyak 5 kg, yang diperoleh dari Pasar Beringharjo JL. Pabringan No. 1 Yogyakarta, etanol, n-heksana, etil asetat, isolat *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, Ampisilin *disc* 10 μ l, aquadest steril, alkohol 70%, medium *Nutrient Agar*, medium *Nutrient Broth*, metanol 30%, H₂SO₄, kloroform, amoniak, H₂SO₄ 2M, reagen Dragendorff, reagen Meyer, reagen Wagner, larutan FeCl₃ 1%, asam chloride 2N, dietil eter, natrium nitrit 5%, aluminium chloride 10%, natrium hidroksida 1M, quercetin, quinine, larutan BCG, dan buffer fosfat.

B. Tahap Penelitian

1. Preparasi dan pembuatan serbuk biji alpukat

Biji alpukat dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran yang menempel, kemudian ditiriskan. Biji kemudian dipotong-potong kecil dengan menggunakan pisau. Biji alpukat kemudian dikeringkan dengan metode pengeringan tradisional menggunakan sinar matahari. Proses pengeringan dilakukan selama 6 jam dengan pengadukan sesekali. Penentuan berat kering dilakukan dengan mengurangi berat awal daun dengan berat akhir daun kering dikali 100% hingga kadar air total mencapai 13%. Biji yang sudah benar-benar kering kemudian dibuat serbuk menggunakan *blender*. Serbuk kering tersebut kemudian diayak dengan saringan kopi dan disimpan dalam wadah plastik.

2. Ekstraksi biji alpukat

Serbuk biji alpukat sebanyak 100 gram dimaserasi dengan cara merendam simplisia ke dalam masing-masing pelarut (etanol, n-heksana, dan etil asetat) sebanyak 1000 ml (perbandingan 1:10 (w/v)) selama 24 jam pada suhu 25⁰C. Sampel kemudian disaring dengan kertas penyaring. Residu kembali dimaserasi lagi dengan cara yang sama, sampai dua kali (selama 2 hari). Ekstrak hasil maserasi atau filtrat yang dihasilkan kemudian ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 60⁰C untuk pelarut n-heksana dan 70⁰C untuk pelarut etanol dan etil asetat, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental biji alpukat.

3. Identifikasi kandungan kimia biji alpukat

a. Uji flavonoid

Ekstrak biji alpukat diambil sebanyak 0,1 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. air panas sebanyak 100 ml ditambahkan ke erlenmeyer, dididihkan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat diambil sebanyak 5 ml, serbuk Mg sebanyak 0,05 mg, larutan HCl 5N sebanyak 1 tetes, dan amil alkohol sebanyak 3 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok

perlahan. Hasil positif flavonoid ditandai terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga bening.

b. Uji alkaloid

Ekstrak biji alpukat sebanyak 0,2 gram ditambah 5 ml kloroform dan 3 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes larutan H_2SO_4 2 M. Fraksi asam dibagi menjadi 3 tabung yang masing-masing ditambah pereaksi Dragendorff, Meyer, dan Wagner. Senyawa alkaloid pada sampel ditandai dengan adanya endapan merah pada pereaksi Dragendorff, endapan putih pada pereaksi Meyer, dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

c. Uji tanin

Ekstrak biji alpukat sebanyak 0,1 gram ditambah 10 ml akuades, kemudian didiamkan selama 5 menit. Ekstrak biji alpukat disaring, lalu filtrat ditambah 5 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman.

d. Uji saponin

Ekstrak biji alpukat sebanyak 0,1 gram ditambah 10 ml akuades, kemudian dikocok selama 30 menit. Pengamatan dilakukan terhadap ada atau tidaknya busa yang terbentuk di permukaan ekstrak biji alpukat. Hasil positif ditandai dengan adanya busa ± 1 cm.

4. Penghitungan Kadar Flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis

a. Preparasi ekstrak biji alpukat

Ekstrak biji alpukat sebanyak 50 mg dimasukkan dalam labu godok dan ditambahkan asam chloride 2 N sebanyak 10 ml. Larutan direfluk selama 30 menit, kemudian didinginkan. Larutan diekstraksi dengan 10 ml dietil eter, kemudian fase dietil eter diambil. Ekstraksi larutan diulangi sebanyak 2 kali. Fase dietil eter diuapkan dengan hembusan gas nitrogen hingga kering. Natrium nitrit 5% sebanyak 0,3 ml kemudian ditambahkan dan setelah 5 menit 0,6 ml aluminium chloride 10% kemudian ditambahkan pada larutan. Setelah 5 menit larutan ditambah 2 ml natrium hidroksida 1 M, kemudian ditambah dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Larutan dipindah ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan program UV-Probe untuk menghitung konsentrasi ekstrak pada panjang gelombang 510 nm.

b. Pembuatan kurva baku standar

Standar quercetin sebanyak 10,0 mg diambil dan ditambah 0,3 ml natrium nitrit 5%. Setelah 5 menit larutan ditambah 0,6 ml aluminium chloride 10%, kemudian didiamkan selama 5 menit, dan ditambah 2 ml natrium hidroksida 1 M. Larutan ditambah dengan aquades hingga 10 ml dengan labu takar. Larutan dipindah ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan program UV-Probe untuk menghitung regresi linier secara otomatis ekstrak pada panjang gelombang 510 nm.

5. Penghitungan Kadar Alkaloid dengan Spektrofotometer UV-Vis

a. Preparasi ekstrak biji alpukat

Ekstrak biji alpukat sebanyak 50 mg ditambah 5 ml HCl 2N, kemudian digojog dan disaring. Larutan dicuci dengan 10 ml chloroform sebanyak 3 kali dalam corong pisah. Larutan dinetralkan dengan penambahan 0,1 N NaOH, kemudian ditambah dengan 5 ml larutan BCG dan 5 ml buffer fosfat. Larutan ditambah dengan chloroform 5 ml dan diaduk dengan stirrer magnetic selama 15 menit pada kecepatan 500 rpm. Ekstraksi larutan diulang dengan chloroform sebanyak 2 kali. Fase chloroform dikumpul dan dievaporasikan dengan gas nitrogen, kemudian ditambah dengan 10 ml chloroform pada labu takar. Larutan dipindah ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan program UV-Probe untuk menghitung konsentrasi ekstrak pada panjang gelombang 334 nm.

b. Pembuatan kurva baku standar

Standar quinine sebanyak 10,0 mg diambil dan ditambah dengan 10 ml chloroform pada labu takar. Larutan dipindah ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan program UV-Probe untuk menghitung regresi linier secara otomatis ekstrak pada panjang gelombang 334 nm.

6. Uji antibakteri berdasarkan luas zona hambat dengan kertas cakram

Kultur bakteri uji diambil sebanyak 100 µl diinokulasikan pada medium NA dengan metode *spread plate*. Kertas cakram berukuran 0,6 mm diambil menggunakan pinset dan diletakkan pada medium. Ekstrak biji alpukat dengan berbagai pengestrak (etanol, n-heksana, dan etil asetat) dilarutkan sebanyak 1 gram dalam 6 ml aquadest steril, dan masing-masing diteteskan pada kertas cakram yang berbeda sebanyak 30 µl. Kontrol pelarut etanol, n-heksana, dan etil asetat diteteskan sebanyak 30 µl masing-masing pada kertas cakram yang berbeda. Ampisilin *disc* 10 mg sebanyak 1 buah diletakkan pula diatas medium sebagai kontrol positif. Cawan petri kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat. Luas zona hambat dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$L = 3,14 \times \left[\left(\frac{d_2}{2} \right)^2 - \left(\frac{d_1}{2} \right)^2 \right] \text{ (dalam cm}^2\text{)}$$
$$d_2 = \frac{d \text{ terpanjang} + d \text{ terpendek}}{2}$$

Keterangan:

d_1 = diameter sumuran (cm)

d_2 = rata-rata diameter zona hambat (cm)

7. Pengukuran konsentrasi hambat minimum

Pengukuran konsentrasi hambat minimum (KHM) dapat dilakukan dengan metode seri pengenceran. Tabung reaksi disiapkan 7 buah untuk setiap pengenceran ekstrak. Masing-masing tabung reaksi diberi label dari 1 sampai 7 pada masing-masing seri pengenceran ekstrak. Tabung nomor 2 sampai 7 berisi

nutrient broth sebanyak 5 ml sementara tabung nomor 1 berisi nutrient broth sebanyak 10 ml.

Ekstrak biji alpukat yang sudah dipekatkan dengan *rotary evaporator* dianggap memiliki konsentrasi 100%. Ekstrak biji alpukat 100% ditimbang sebanyak 1,7 gram dan dimasukkan ke dalam tabung no. 1 berisi 10 ml nutrient broth, kemudian diambil dan ditambahkan sebanyak 5 ml ke dalam tabung no. 2 dan dihomogenkan dengan *vortex*, langkah ini diulang hingga tabung no. 7. Pengenceran secara serial tabung nomor 1 hingga nomor 7 adalah 100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, dan 1,5625%.

Biakan bakteri uji sebanyak 1 ml diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung, kemudian di-*vortex*. Tabung reaksi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Terdapat antibiotik ampisilin sebagai kontrol positif dan masing-masing pelarut sebagai kontrol negatif. Tabung yang kekeruhannya paling sedikit dengan nilai konsentrasi terkecil ditentukan sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) untuk ekstrak biji alpukat.

C. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANAVA dengan tingkat kepercayaan sebesar 95% dan untuk mengetahui letak beda nyata tiap perlakuan dengan kontrol maka akan dilakukan uji Dunnett. Apabila ANAVA menunjukkan adanya beda nyata, analisis dilanjutkan dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui adanya beda nyata antar perlakuan. Analisis tersebut akan dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS 15.0).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Biji Alpukat

Hasil ekstraksi biji alpukat berbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh dengan pelarut etanol sebanyak 12,05 gram, dengan pelarut etil asetat sebanyak 4,47 gram, dan dengan pelarut n-heksan sebanyak 3,11 gram. Ekstrak etanol memiliki berat paling besar yaitu 12,05 gram dibanding ekstrak etil asetat dan n-heksan karena etanol merupakan pelarut polar sehingga akan mengekstrak senyawa polar dalam biji alpukat. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa kimia biji alpukat sebagian besar merupakan senyawa polar.

Hasil akhir pasta etanol berwarna merah kehitaman, sementara pasta etil asetat dan n-heksan berwarna merah kecoklatan. Hasil identifikasi ekstrak berupa warna dan massa ekstrak kental bersifat subyektif, maka dari itu perlu dilakukan pengujian senyawa fitokimia lebih spesifik secara kualitatif maupun kuantitatif untuk mengetahui kandungan kimia biji alpukat (Gandjar dkk., 2008).

B. Senyawa Kimia Ekstrak Biji Alpukat

Hasil ekstrak kental biji alpukat dari ketiga pelarut dilakukan pengujian kandungan fitokimia meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Penelitian ini juga menguji kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid dari pasta hasil ekstraksi biji alpukat secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis. Uji fitokimia ini dilakukan agar diketahui komponen bioaktif apa yang terdapat di

dalam sampel uji. Hasil pengujian senyawa kimia ekstrak biji alpukat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kualitatif Fitokimia Ekstrak Biji Alpukat

Pelarut	Flavonoid	Alkaloid			Tanin	Sapoinin
		Dragendorff	Wagner	Meyer		
Etanol	+	+	-	-	+	+
Etil Asetat	+	+	-	-	-	+
n-Heksan	-	+	-	-	-	-

Keterangan: + = Menunjukkan terdapat senyawa tersebut
 - = Menunjukkan tidak terdapat senyawa tersebut

Pada hasil uji kualitatif flavonoid ekstrak biji alpukat menunjukkan hasil positif pada pelarut etanol dan etil asetat, sedangkan pada pelarut n-heksan menunjukkan hasil negatif. Berdasarkan hasil uji pada ekstrak biji alpukat pelarut etanol dan etil asetat menghasilkan warna kuning bening yang menunjukkan terdapatnya flavonoid pada sampel, sedangkan pada pelarut n-heksan menghasilkan warna putih bening yang menunjukkan tidak terdapatnya flavonoid pada sampel.

Berdasarkan hasil uji kuantitatif flavonoid diperoleh kadar flavonoid total ekstrak etanol biji alpukat sebesar 1,15% sedangkan ekstrak etil asetat biji alpukat sebesar 0,17%. Kadar flavonoid total pada ekstrak etanol biji alpukat lebih besar dibandingkan ekstrak etil asetat biji alpukat. Hasil ini menunjukkan etanol yang merupakan pelarut polar lebih efektif dalam menarik flavonoid dibandingkan etil asetat yang merupakan pelarut semi polar.

Tabel 2. Kadar flavonoid total

Sampel	Replikasi	Volume Sampel (ml)	Faktor Pengerenan (x)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Hasil Pembacaan (ppm)	Total Flavonoid (% b/V)	Rata-rata (% b/v)
Ekstrak Etanol	1	0,1	10	1000	11,557	1,156	1,15
	2	0,1	10	1000	11,493	1,149	
Ekstrak Etil Asetat	1	0,1	5	2000	3,405	0,170	0,17
	2	0,1	5	2000	3,431	0,172	

Pengujian alkaloid ekstrak biji alpukat menunjukkan hasil positif pada ketiga pelarut dengan terbentuknya endapan coklat saat diberikan pereaksi Dragendorff dan menunjukkan hasil negatif pada ketiga pelarut dengan tidak terbentuknya endapan saat diberikan pereaksi Meyer dan Wagner. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat. Hasil negatif dari pereaksi Wagner dan Meyer bisa disebabkan karena adanya alkaloid spesifik pada biji alpukat yang tidak dapat bereaksi dengan pereaksi Wagner dan Meyer namun dapat bereaksi positif pada pereaksi Dragendorff. Pereaksi Wagner diperuntukkan untuk identifikasi alkaloid turunan xanthin (kafein) dan pereaksi Meyer diperuntukkan untuk identifikasi golongan alkaloid narkotika seperti kokain, katinon, dan heroin, serta alkaloid golongan opium seperti morfin dan codein (Gandjar dkk., 2008).

Berdasarkan hasil uji kuantitatif alkaloid diperoleh kadar alkaloid total ekstrak etanol biji alpukat sebesar 0,18%, ekstrak etil asetat biji alpukat sebesar 0,15%, dan ekstrak n-heksan biji alpukat sebesar 0,13%. Hasil ini menunjukkan etanol yang merupakan pelarut polar serta etil asetat dan n-heksan yang merupakan pelarut semi polar sama-sama efektif dalam menarik alkaloid.

Tabel 3. Kadar alkaloid total

Sampel	Replikasi	Volume Sampel (ml)	Faktor Pengenceran (x)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Hasil Pembacaan (ppm)	Total Alkaloid (% b/V)	Rata-rata (% b/v)
Ekstrak Etanol	1	0,1	2	5000	9,03	0,181	0,18
	2	0,1	1	10000	18,102	0,181	
Ekstrak Etil Asetat	1	0,1	1	10000	14,667	0,147	0,15
	2	0,1	1	10000	14,987	0,150	
Ekstrak n-heksan	1	0,1	1	10000	12,643	0,127	0,13
	2	0,1	1	10000	12,867	0,129	

Pada hasil uji kualitatif tanin ekstrak biji alpukat menunjukkan hasil positif pada pelarut etanol, sedangkan pada pelarut etil asetat dan n-heksan menunjukkan hasil negatif. Berdasarkan hasil uji pada ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol menghasilkan warna hitam yang menunjukkan terdapatnya tanin pada sampel, sedangkan pada pelarut etil asetat dan n-heksan menghasilkan warna coklat yang menunjukkan tidak terdapatnya tanin pada sampel.

Pada hasil uji kualitatif saponin ekstrak biji alpukat menunjukkan hasil positif pada pelarut etanol dan etil asetat, sedangkan pada pelarut n-heksan menunjukkan hasil negatif. Berdasarkan hasil uji pada ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol dan etil asetat menunjukkan terdapatnya saponin pada sampel yaitu dengan terbentuknya busa, sedangkan pada pelarut n-heksan tidak terbentuk busa yang menunjukkan tidak terdapatnya saponin pada sampel.

C. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat terhadap *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* menggunakan metode sumuran pada agar petridish. Pengujian ini bertujuan untuk melihat kemampuan ekstrak biji alpukat dengan variasi pelarut (etanol, etil asetat, dan n-heksan) dalam menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* yang dilihat dari zona bening yang terbentuk. Analisis data dilanjutkan dengan uji DMRT untuk melihat variasi yang memberikan pengaruh terbaik. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etanol memberikan pengaruh terbaik atau zona penghambatan terbaik untuk bakteri *Bacillus cereus*, sedangkan pelarut etil asetat memberikan pengaruh terbaik atau zona penghambatan terbaik untuk bakteri *Vibrio cholerae* (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil pengujian DMRT luas zona hambat (cm²) aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat dengan variasi pelarut dan kontrol ampisilin terhadap mikrobia uji *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae*

Perlakuan	Luas Zona Hambat (cm ²)	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
Ekstrak etanol	4,1900 ^b	0,9520 ^a
Ekstrak n-heksan	1,3900 ^a	0,6560 ^a
Ekstrak etil asetat	1,8560 ^a	3,2360 ^b
Ampisilin	0,9500 ^a	0,9500 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat termasuk pada jenis *Broad spectrum*. Hal ini didasarkan pada hasil positif kemampuan daya hambat ekstrak pada kedua bakteri uji yaitu *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae*. Hasil pengujian ANAVA menunjukkan bahwa daya penghambatan ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol pada bakteri *Bacillus cereus* merupakan yang terbaik (memiliki zona hambat terbesar) dengan adanya beda nyata dengan kontrol positif (ampisilin). Hasil pengujian SPSS pada bakteri *Vibrio cholerae* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji alpukat merupakan hasil terbaik dengan zona hambat paling besar pada bakteri uji ini dengan adanya beda nyata dengan kontrol positif (ampisilin).

Aktivitas antibakteri yang diperlihatkan oleh ekstrak biji alpukat juga diakibatkan adanya senyawa-senyawa fitokimia pada biji alpukat seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Pada uji fitokimia ekstrak biji alpukat dengan pelarut etanol menunjukkan keberadaan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin, pada pelarut etil asetat menunjukkan keberadaan flavonoid, alkaloid, dan saponin, dan pada pelarut n-heksan menunjukkan keberadaan alkaloid. Keempat senyawa fitokimia tersebut memiliki aktivitas antibakteri.

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. 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).

Saponin bekerja sebagai antibakteri dan menjadi penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik. 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). Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan cara merusak membran pada sel bakteri. Tanin menyebabkan membran sel bakteri mengerut sehingga menyebabkan permeabilitas sel bakteri. Akibatnya, metabolisme bakteri terganggu dan akhirnya lisis dan mati (Ajizah, 2004).

D. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Biji Alpukat

Menurut Cappuccino dan Shermann (2011), KHM merupakan konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobia uji. Pada uji KHM ini ekstrak biji alpukat yang diuji adalah ekstrak yang memiliki daya hambat terbaik pada masing-masing bakteri uji yang hasilnya telah diperoleh dari uji aktivitas antibakteri sebelumnya. Tabung yang memiliki kejernihan paling mendekati kontrol positif dengan konsentrasi terkecil dianggap sebagai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak biji alpukat (Santoso, 2010). Kekekutan yang merata pada medium menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri uji pada medium cair (Santoso, 2010).

Pada pengujian KHM bakteri *Bacillus cereus* menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat memiliki KHM sebesar 3,625% terhadap bakteri *Bacillus cereus*. Pada pengujian KHM bakteri *Vibrio cholera* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji alpukat memiliki nilai KHM sebesar 6,25% terhadap bakteri *Vibrio cholera*. Berdasarkan hasil uji KHM ekstrak biji alpukat terhadap kedua jenis bakteri uji dapat dilihat bahwa secara umum *Bacillus cereus* yang mewakili bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap ekstrak biji alpukat daripada bakteri Gram negatif yang diwakili oleh *Vibrio cholerae*.

Hal tersebut dapat terjadi karena meskipun bakteri Gram negatif tidak memiliki peptidoglikan setebal bakteri Gram positif, tetapi bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang jauh lebih kompleks dan kuat yang dapat mencegah masuknya senyawa-senyawa antibakteri masuk ke dalam sel. Bakteri Gram negatif memiliki membran sel terluar berupa lapisan Lipopolisakarida (LPS) yang tersusun atas asam lemak (lipid A) yang berikatan dengan gugus amina dari polisakarida membentuk glukosamin fosfat. Lapisan lipopolisakarida tersebut juga mengakibatkan senyawa-senyawa antibakteri yang bersifat polar sulit menembus dinding sel bakteri Gram negatif (Madigan dkk., 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* dengan variasi pengekstrakan dapat disimpulkan :

1. Ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji yaitu *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholera*.
2. Pelarut etanol menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap *Bacillus cereus*. Pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri paling tinggi terhadap *Vibrio cholera*.
3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 12,5% terhadap *Bacillus cereus*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etil asetat biji alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 6,25% terhadap *Vibrio cholera*.

SARAN

Saran yang diperlukan pada penelitian aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Bacillus cereus* dan *Vibrio cholerae* adalah:

1. Pembuatan serbuk ekstrak dengan ukuran partikel yang lebih kecil (>35 mesh) dapat dilakukan agar ekstraksi maserasi dapat berlangsung lebih optimal.
2. Pengujian fitokimia sebaiknya menggunakan metode yang meminimalisir penggunaan suhu tinggi (>80°C), karena senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji alpukat mudah rusak bila terkena panas

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A., 2004. Sensitifitas *Salmonella Typhi* Murium terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. *Biosciential* 1 (1) : 31-38.
- Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 2011. *Microbiology a Laboratory Manual 9th edition*. Pearson Benjamin Cummings, San Fransisco. Halaman. 7-8, 23-24, 59-60, 65-66, 93, 297.
- Gandjar., Ibnu, G. dan Rahman, A. 2008. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta. Halaman 97, 99-101.
- Ganiswarna, S.G. 2003. *Farmakologi dan Terapi*. Universitas Indonesia, Jakarta. Halaman 47.
- Green, J.R.S. 2005. *Pengobatan Alami Mengatasi Bakteri*. Prestasi Pustaka, Jakarta. Halaman 11.
- Hidayati, N.L. 2010. *Mikrobia Patogen*. <http://www.dinkes.kulonprogokab.go.id/?pilih=news&mod=yes&aksi=lihat&id=9>. 20 Mei 2015.
- Indriani, Y. dan Suminarsih, E. 1997. *Alpukat*. Penebar Swadaya, Jakarta. Halaman 10.
- Kementrian Pertanian Republik Indonesia. 2014. *Hasil Komoditas Alpukat*. <http://aplikasi.pertanian.go.id/bdsp/hasilKom.asp>. 29 Oktober 2015.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., dan Stahl, D. A. 2015. *Brock Biology of Microorganism* Fourteenth Edition. Pearson Education, Boston. Halaman 171-178.
- Monica, F. 2006. Pengaruh pemberian air seduhan serbuk biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap kadar glukosa darah tikus wistar yang diberi beban glukosa. *Skripsi*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Naim, R. 2004. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. <http://www.kompas.com/Kompas-cetak/0409/15/sorotan/1265264.html>. 20 Mei 2015.
- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran ECG, Jakarta. Halaman 97.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung. Halaman 20.

- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). *Majalah Kedokteran Gigi* 38 (3): 135-141.
- Santoso, S.C. 2010. Efektivitas Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans* secara *In Vitro*. *Naskah Skripsi-S1*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Utami, E.R. 2012. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. *J. Saintis*. 1(1):124-138.
- Zuhrotun, A. 2007. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) Bentuk Bulat. *Skripsi*. UNPAD, Bandung.

