

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN ASETON DAUN ALPUKAT (*PERSEA AMERICANA MILL.*)

Nike Fadillah^{1*}, Nia Novranda Pertiwi², Gabena Indrayani Dalimunthe³, Anny Sartika Daulay⁴

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah^{1,2,3,4}

*Corresponding Author : nikefadillah5@gmail.com

ABSTRAK

Senyawa fenolik berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menghambat reaksi radikal bebas. Daun alpukat (*Persea americana Mill.*) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antibakteri karena mengandung senyawa fenolik, daun alpukat merupakan tanaman obat yang berpotensi sebagai bahan obat tradisional yang memiliki aktivitas seperti analgesik dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar fenolik total serta uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan aseton dari daun alpukat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini bersifat eksperimental. Pada penelitian ini, langkah awal yang dilakukan adalah uji karakterisasi terhadap serbuk simplisia daun alpukat dan dimaserasi dengan etanol 96% dan aseton. Maserat yang diperoleh ditetapkan kadar fenolik total menggunakan spektrofotometri *visible* pada panjang gelombang 744 nm. Penentuan kadar fenolik total menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan standar asam galat. Kadar fenolik total dinyatakan dalam mg *equivalent* asam galat (GAE) per gram simplisia. Kemudian ekstrak etanol dan aseton di uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi agar. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol 96% daun alpukat memiliki kadar fenolik total sebesar $6,948 \pm 0,054$ mg GAE/g. Hasil kadar rata-rata fenolik total ekstrak aseton sebesar $2,123 \pm 0,011$ mg GAE/g. Hasil uji aktivitas antibakteri diperoleh zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan sampel ekstrak etanol konsentrasi 100% lebih besar dibandingkan dengan ekstrak aseton, dimana zona hambat yang terbentuk sebesar 27,78 mm dengan kategori sangat kuat. Sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* sampel ekstrak etanol dengan konsentrasi 100% yaitu 19,87 mm kategori kuat.

Kata kunci : antibakteri, daun alpukat, fenolik total

ABSTRACT

Phenolic compounds function as antioxidants that can inhibit free radical reactions. Avocado leaves (Persea americana Mill.) have activity as antioxidants and antibacterials because they contain phenolic compounds, avocado leaves are medicinal plants that have potential as traditional medicinal ingredients that have activities such as analgesics and anti-inflammatory. This study aims to determine the total phenolic content and antibacterial activity test of ethanol and acetone extracts of avocado leaves against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria. The method used in this research is experimental. In this study, the first step taken was the characterization test of simplisia powder and avocado leaves macerated with 96% ethanol and acetone. The obtained macerate was determined by total phenolic content using visible spectrophotometry at a wavelength of 744 nm. Determination of total phenolic content using Folin-Ciocalteu method with gallic acid standard. Total phenolic content is expressed in mg gallic acid equivalent (GAE) per gram of simplisia. Then the ethanol and acetone extracts were tested for antibacterial activity against Staphylococcus aureus and Escherichia coli using the agar diffusion method. The results showed that 96% ethanol extract of avocado leaves had a total phenolic content of $6,948 \pm 0,054$ mg GAE/g. The average total phenolic content of acetone extract was $2,123 \pm 0,011$ mg GAE/g. The results of the antibacterial activity test obtained the inhibition zone formed against Staphylococcus aureus bacteria with 100% concentration ethanol extract sample is greater than the acetone extract, where the inhibition zone formed is 27,78 mm with a very strong category. While in Escherichia coli bacteria, the ethanol extract sample with a concentration of 100% is 19,87 mm with a strong category.

Keywords : antibacterial, avocado leaves, total phenolic

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tumbuhan obat semakin mendapat perhatian dalam dunia kesehatan, terutama dalam penggunaan tanaman alpukat (*Persea americana Mill.*) yang kaya senyawa bioaktif, berpotensi mendukung terapi berbasis bahan alami. Sebagai tanaman tropis dan subtropis dari famili Lauraceae, alpukat banyak ditemukan di Indonesia, dan berbagai bagian tanamannya, terutama daun dan buah, dikenal memiliki manfaat kesehatan. Senyawa aktif seperti flavonoid, polifenol, saponin, alkaloid, dan tanin dalam daun alpukat berperan penting dalam aktivitas antioksidan dan antibakteri (Andriani, 2023). Kehadiran flavonoid misalnya, memiliki kemampuan menetralkan radikal bebas, yang jika tidak terkendali, dapat menyebabkan stres oksidatif dan berkontribusi pada berbagai penyakit degeneratif (Talha et al., 2011). Potensi daun alpukat sebagai sumber senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki efek antioksidan dan dapat memperkuat daya tahan tubuh (Anggorowati et al., 2016). Ekstrak metanol daun alpukat dari Riau memiliki nilai IC_{50} sebesar 118,805 $\mu\text{g/mL}$, menunjukkan aktivitas antioksidan yang moderat (Surya et al., 2021). Ekstrak etanol daun alpukat dari Blitar dan Tulungagung masing-masing memiliki IC_{50} sebesar 114,0851 ppm dan 99,2852 ppm (Anggun et al., 2022). Angka ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mampu menangkal radikal bebas pada tingkat yang signifikan, meskipun lebih rendah dibandingkan antioksidan sintetik (Widarta & Wiadnyani, 2019).

Radikal bebas yang tinggi dalam tubuh dapat memicu kerusakan sel yang berujung pada perkembangan penyakit kronis, sehingga daun alpukat berpotensi sebagai antioksidan alami (Katja et al., 2019). Lebih jauh lagi, senyawa fenolik dalam daun alpukat diketahui memiliki mekanisme kerja spesifik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Rahmah et al., 2023). Senyawa fenolik dapat merusak dinding sel bakteri, menyebabkan kebocoran isi sel, dan akhirnya menginaktivkan enzim vital di dalam bakteri (Sitorus et al., 2020). Fenol pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan koagulasi protein dalam sel bakteri, sedangkan pada konsentrasi rendah dapat menghambat enzim yang penting untuk kelangsungan hidup bakteri (Pontoan, 2016). Mekanisme kerja ini menjadi dasar potensial bagi penggunaan ekstrak daun alpukat dalam mengatasi infeksi bakteri, terutama terhadap bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* yang sering menjadi penyebab infeksi kulit dan jaringan lunak (Ernawati & Sari, 2015).

Studi antibakteri oleh (Khafipah et al., 2022) yang menggunakan metode difusi untuk menguji ekstrak etanol daun alpukat pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan, mencapai 19,2 mm pada konsentrasi 100%. Penelitian (Kolopita et al., 2022) juga mendukung temuan ini dengan membandingkan efektivitas antibakteri ekstrak alpukat pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Diameter zona hambat meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, menunjukkan aktivitas yang lebih efektif terhadap bakteri gram positif dibanding gram negatif. Temuan ini menunjukkan potensi antibakteri daun alpukat yang lebih kuat terhadap bakteri dengan struktur dinding sel yang lebih sederhana seperti *Staphylococcus aureus*. (N. P. D. P. Putri et al., 2023). Pemilihan metode ekstraksi yang berbeda, yaitu etanol dan aseton, didasarkan pada potensi masing-masing pelarut dalam menarik senyawa fenolik dengan kadar dan komposisi berbeda, yang dapat memengaruhi efektivitas antibakteri (Widarta & Arnata, 2017).

Dengan mengacu pada penelitian ini, studi ini bertujuan untuk mengukur kandungan fenolik total pada ekstrak etanol dan aseton daun alpukat menggunakan metode Folin-Ciocalteu dan analisis spektrofotometri UV-Vis, serta menguji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang melibatkan beberapa tahap penting. Dimulai dengan pengumpulan bahan, penelitian ini berfokus pada pembuatan ekstrak etanol dan ekstrak aseton dari daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menggunakan metode maserasi. Selanjutnya, dilakukan karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia untuk menilai kandungan senyawa aktif. Penetapan kadar fenolik total dari ekstrak dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis. Selain itu, aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diuji menggunakan metode difusi agar. Parameter penelitian meliputi pengumpulan bahan, pembuatan ekstrak, karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, penetapan kadar fenolik total, dan uji aktivitas antibakteri. Penelitian ini dilaksanakan dari Desember 2023 hingga Maret 2024 di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan.

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan meliputi berbagai senyawa kimia dan reagen seperti daun alpukat (*Persea americana* Mill.), asam asetat, etanol 96%, aseton, asam klorida, natrium klorida, iodium, dan berbagai reagen lainnya. Bahan-bahan ini dipilih berdasarkan fungsinya dalam proses ekstraksi dan pengujian fitokimia. Daun alpukat sebagai bahan utama disortasi, dikeringkan, dan dihaluskan sebelum diekstraksi menggunakan pelarut etanol dan aseton. Pengolahan sampel melibatkan proses pemisahan simplisia dari kotoran, serta pembuatan larutan pereaksi yang diperlukan untuk uji fitokimia. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini termasuk laminar air flow, spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, dan berbagai alat gelas laboratorium seperti beaker glass, tabung reaksi, dan cawan petri. Alat-alat ini digunakan untuk berbagai tahapan dalam pengolahan dan pengujian sampel, mulai dari ekstraksi hingga analisis karakteristik bahan.

Sampel daun alpukat diperoleh dari Jl. Garu III, Kec. Amplas, Kota Medan, dan ditentukan di Herbarium Medanense untuk memastikan identitasnya. Setelah disortasi dan dikeringkan, daun tersebut diserbukkan dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dan aseton. Hasil ekstraksi diuji menggunakan berbagai reagen untuk mendeteksi kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid, dan glikosida. Penentuan kadar senyawa fenolik total dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dengan penilaian absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Untuk pengujian aktivitas antibakteri, alat-alat dan bahan disterilisasi terlebih dahulu dengan oven atau autoklaf, dan larutan natrium klorida 0,9% disiapkan untuk keperluan pengujian. Prosedur ini memastikan bahwa hasil penelitian valid dan dapat diandalkan. Analisis data fenolik total dilakukan menggunakan kurva standar, sementara analisis aktivitas antibakteri dilakukan dengan mengamati zona hambat dan dianalisis menggunakan SPSS versi 25.

HASIL

Hasil Identifikasi Sampel

Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi di Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Hasil identifikasi tanaman tersebut menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang termasuk ke dalam famili *Lauraceae*.

Hasil Pengolahan Sampel

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kec. Amplas, Medan. Daun yang telah dikumpulkan dilakukan sortasi basah terlebih dahulu untuk memisahkan kotoran dan benda asing dari bahan simplisia. Daun segar sebanyak 5 kg dicuci kemudian dikeringkan. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk

memisahkan kotoran yang masih menempel di simplisia kemudian simplisia diblender hingga menjadi serbuk dan diperoleh berat simplisia sebanyak 1,6 kg. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan aseton hingga diperoleh ekstrak kental etanol 115,179 g dan ekstrak aseton 82,762 g berwarna hitam kecoklatan dengan bau yang khas.

Pemeriksaan Makroskopik Simplisia Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Pengamatan makroskopik dilakukan dengan mengamati secara langsung kondisi fisik daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang digunakan dalam penelitian ini. Dari hasil pemeriksaan secara makroskopik daun alpukat diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Pengamatan Makroskopik Daun Alpukat

| No. | Parameter | Keterangan |
|-----|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Bentuk | Daunnya tunggal, berbentuk jorong sampai bundar telur memanjang, ujung daun meruncing, tepi daun merata kadang-kadang agak menggulung keatas, permukaan daun licin, panjang daun 10 - 20 cm dan lebar daun 5 - 10 cm |
| 2. | Warna | Hijau |
| 3. | Rasa | Kelat dan pahit |
| 4. | Bau | Aromatik lemah |

Pemeriksaan Mikroskopik Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.)

Pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia bertujuan untuk melihat fragmen pengenal pada daun alpukat. Dari hasil pemeriksaan secara mikroskopik dapat dilihat adanya rambut penutup, pembuluh kayu, hablur kalsium oksalat, dan fragmen epidermis atas.

Penentuan Rendemen

Dari 500 g serbuk simplisia daun alpukat diperoleh rendemen ekstrak kental etanol 96% sebanyak 115,179 g (23,036%) dan ekstrak aseton sebanyak 82,762 g (16,552%).

Pemeriksaan Karakterisasi Simplisia

Parameter mutu simplisia mencakup penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar abu total dan penetapan kadar abu tidak larut asam. Hasil karakterisasi serbuk simplisia daun alpukat tertera pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Alpukat

| No. | Parameter | Hasil (%) | Syarat MMI (%) |
|-----|----------------------------|-----------|----------------|
| 1. | Kadar air | 3,33 | < 10 |
| 2. | Kadar sari larut air | 22,4 | > 19 |
| 3. | Kadar sari larut etanol | 19,67 | > 18,9 |
| 4. | Kadar abu total | 3,05 | < 4,9 |
| 5. | Kadar abu tidak larut asam | 0,58 | < 1,7 |

Hasil penetapan kadar abu total untuk simplisia daun alpukat adalah 3,05%. Hal ini berarti simplisia daun alpukat memenuhi persyaratan kadar abu total. Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu selanjutnya dididihkan dengan 25 mL asam klorida selama 5 menit, bagian tidak larut asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas lalu dipijarkan hingga bobot tetap kemudian ditimbang, persyaratan kadar abu tidak larut asam tidak lebih dari 1,7%. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam pada daun alpukat adalah 0,58%, dimana hasil tersebut memenuhi persyaratan kadar abu tidak larut asam.

Hasil Ekstraksi Daun Alpukat

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan aseton. Ekstrak kental etanol 96% yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 115,179 g dari 500 g serbuk simplisia dengan rendemen 23,036% dan ekstrak kental aseton yang diperoleh dari hasil maserasi sebanyak 82,762 g dari 500 g serbuk simplisia dengan rendemen 16,552% dengan ekstrak yang berbentuk cairan kental, berwarna coklat kehitaman dan memiliki bau yang khas.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam serbuk, ekstrak etanol dan ekstrak aseton daun alpukat. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Serbuk, Ekstrak Etanol dan Aseton Daun Alpukat

| No. | Golongan Senyawa | Serbuk | Ekstrak Etanol | Ekstrak Aseton |
|-----|----------------------|-----------|----------------|----------------|
| 1. | Alkaloid | + | + | + |
| | - Mayer | + | + | + |
| | - Bouchardat | + | + | + |
| | - Dragendorff | + | + | + |
| 2. | Flavonoid | + | + | + |
| 3. | Tanin | + | + | + |
| 4. | Saponin | + | + | + |
| 5. | Steroid/Triterpenoid | + Steroid | + Steroid | + Steroid |
| 6. | Glikosida | + | + | + |

Keterangan :

: Tidak mengandung metabolit sekunder

+ : Mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 3 hasil skrining fitokimia serbuk, ekstrak etanol dan aseton daun alpukat menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan glikosida. Pada uji senyawa alkaloid hasil positif pereaksi Mayer ditandai dengan terbantuknya endapan putih, pada pereaksi Bouchardat terdapat endapan berwarna coklat sedangkan untuk pereaksi Dragendorff terdapat endapan berwarna merah atau jingga. Alkaloid dianggap positif apabila 2 dari 3 pereaksi terbentuk endapan atau terjadi perubahan warna, yang berarti serbuk simplisia, ekstrak etanol dan aseton daun alpukat positif mengandung senyawa alkaloid.

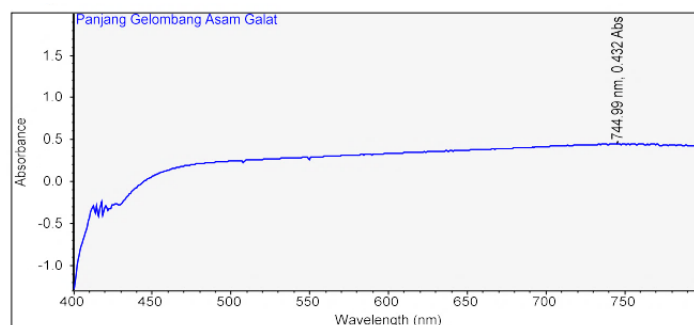
Pada uji flavonoid terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga menunjukkan hasil positif flavonoid. Dari uji flavonoid pada serbuk terbentuk warna kuning. Sedangkan pada ekstrak etanol dan aseton terbentuk warna jingga. Pada uji tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 1%. Hal ini dapat terjadi karena penambahan FeCl_3 pada tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} . Serbuk simplisia, ekstrak etanol dan aseton daun alpukat menunjukkan adanya senyawa tanin yaitu terbentuk warna hijau kehitaman.

Pada uji saponin serbuk simplisia, ekstrak etanol dan aseton daun alpukat menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busadan dapat bertahan selama 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana *et al.*, 2005). Warna biru sampai hijau pada sampel menyatakan hasil positif senyawa steroid, sedangkan untuk warna merah kecoklatan sampai ungu menyatakan hasil positif uji terpenoid. Serbuk simplisia, ekstrak etanol dan aseton daun alpukat menunjukkan warna hijau yang berarti positif steroid. Hal ini terjadi karena senyawa steroid bereaksi dengan H_2SO_4 sehingga menghasilkan warna hijau hingga biru. Pada hasil

skrining glikosida dengan metode refluks. Serbuk simpisia, ekstrak etanol dan aseton daun alpukat menunjukkan hasil positif senyawa glikosida. Hal ini ditandai dengan terbentuknya cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida.

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Absorbansi Maksimum

Penetapan kadar fenolik total diawali dengan mengukur panjang gelombang maksimum dari larutan baku asam galat menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan bantuan instrument spektrofotometer *visible* dengan konsentrasi 8 $\mu\text{g/mL}$ dan diperoleh panjang gelombang 744 nm dengan absorbansi 0,432 Abs. Hasil pengukuran panjang gelombang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Panjang Gelombang Asam Galat

Hasil Pengukuran *Operating Time*

Operating Time bertujuan untuk mengetahui waktu paling stabil dari pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi. *Operating time* dilakukan dengan mengukur waktu antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalisir terjadinya kesalahan pada saat pengukuran. Larutan baku yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks yang membutuhkan waktu agar reaksi yang terbentuk stabil. Penentuan *operating time* dilakukan dengan menggunakan larutan baku dengan penambahan reagen *Folin-Ciocalteu* yang diukur pada panjang gelombang 610-750 nm. Hasil pengukuran *operating time* pada menit ke 16 dengan absorbansi 0,427.

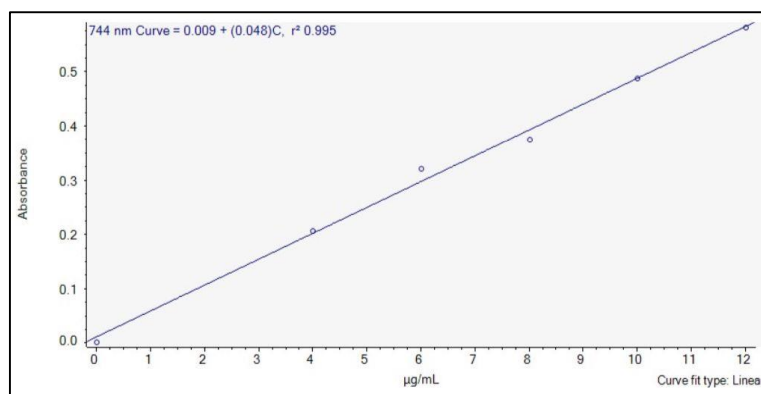
Hasil Penetapan Kurva Kalibrasi Asam Galat dengan Reagen *Folin-Ciocalteu*

Penentuan kurva kalibrasi dengan berbagai seri konsentrasi dari larutan baku asam galat yaitu 4, 6, 8, 10 dan 12 $\mu\text{g/mL}$ yang telah direaksikan dengan reagen *Folin-Ciocalteu*. Masing-masing seri konsentrasi diukur pada panjang gelombang 744 nm hingga diperoleh kurva kalibrasi hubungan antara konsentrasi asam galat ($\mu\text{g/mL}$) dengan absorbansi 0,2 – 0,6.

Tabel 4. Nilai Absorbansi Larutan Baku Asam Galat

| Konsentrasi | Absorbansi | Persamaan Regresi |
|-------------|------------|------------------------|
| 0 | 0 | $y = 0,0478x + 0,0093$ |
| 4 | 0,205 | |
| 6 | 0,321 | |
| 8 | 0,374 | |
| 10 | 0,486 | |
| 12 | 0,582 | |

Tabel 4 menunjukkan nilai absorbansi larutan baku asam galat dari berbagai konsentrasi. Dari data diatas diperoleh kurva kalibrasi seperti ditunjukkan gambar 2.

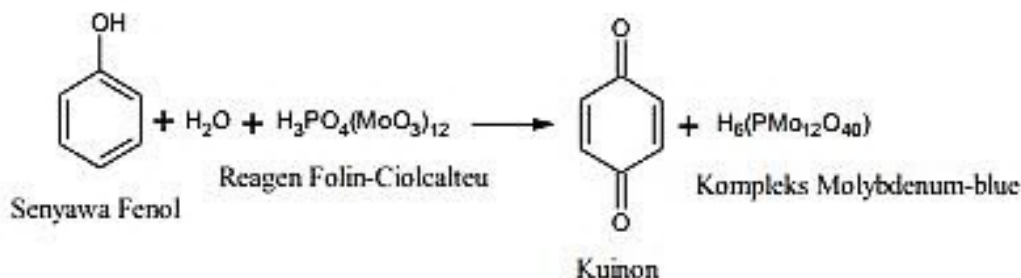


Gambar 2. Kurva Kalibrasi Asam Galat

Persamaan regresi yang diperoleh dari larutan baku asam galat yaitu $y = 0,0478x + 0,0093$ dengan koefisien korelasi sebesar 0,9951. Nilai linieritas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dan hasil absorbansinya.

Hasil Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol dan Aseton Daun Alpukat

Penetapan kadar fenolik total dengan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* dengan bantuan instrument spektrofotometer *visible*. *Folin-Ciocalteu* akan membentuk kompleks molibdenum tungsten yang berwarna biru dikarenakan reduksi senyawa fosfotungstat-fosfomolibdat oleh senyawa fenolik dan semakin pekat warna biru yang dihasilkan menunjukkan semakin banyaknya kandungan senyawa fenol yang terdeteksi. Reaksi antara senyawa fenolik dengan *Folin-Ciocalteu* terjadi suasana basa agar membentuk ion fenolat dari senyawa fenolik. Reaksi yang terjadi adalah reaksi reduksi-oksidasi. Senyawa fenolik mereduksi fosfomolibdat - fosfotungstat dalam *Folin-Ciocalteu* membentuk molybdenum yang berwarna biru. Adapun reaksi yang terjadi antara senyawa fenol dan reagen *Folin-Ciocalteu*, yaitu:



Gambar 3. Reaksi Reagen Folin-Ciocalteu dengan Senyawa Fenol

Pada penelitian ini digunakan pelarut yang berbeda kepolarannya. Proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik yang berbeda tingkat kepolaran akan mempengaruhi jenis dan kadar senyawa bioaktif.

Penetapan kadar total dihitung dengan menggunakan persamaan garis regresi linier $y = ax + b$ yang diperoleh dari hasil kurva kalibrasi larutan baku asam galat sehingga didapat nilai konsentrasi (x). Nilai x kemudian akan disubstitusikan dalam rumus perhitungan kadar fenolik total. Penetapan kadar fenolik total dilakukan dengan replikasi sebanyak 6 kali pengulangan dan diambil nilai rata-ratanya seperti yang disajikan dalam tabel 5

Tabel 5. Nilai Fenolik Total Ekstrak Etanol dan Aseton Daun Alpukat

| Kadar Sebenarnya (mg GAE/g) Ekstrak Etanol | Kadar Sebenarnya (mg GAE/g) Ekstrak Aseton |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| 6,948 ± 0,054 mg GAE/g | 2,123 ± 0,011 mg GAE/g |

Berdasarkan diagram, terdapat hasil kadar sebenarnya dari ekstrak etanol dan aseton daun alpukat. Dari hasil penelitian ini diperoleh kadar rata-rata fenolik total pada ekstrak etanol daun alpukat adalah $6,948 \pm 0,054$ mg GAE/g. Kadar rata-rata fenolik total pada ekstrak aseton adalah $2,123 \pm 0,011$ mg GAE/g.

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol dan aseton daun alpukat diuji menggunakan metode difusi agar dengan kertas cakram. Prosedur awal dimulai dengan sterilisasi peralatan untuk mencegah kontaminasi selama pengujian, di mana peralatan gelas disterilisasi menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam, dan media Mueller Hilton Agar (MHA) disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Atmojo, 2016). Media MHA dipilih karena menyediakan nutrisi optimal bagi bakteri aerob maupun anaerob, serta merupakan media standar untuk metode difusi Kirby-Bauer (Thamlikitkul & Tiengrim, 2008). Penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, masing-masing mewakili bakteri gram positif dan gram negatif. Identifikasi dilakukan dengan pewarnaan Gram, di mana *Staphylococcus aureus* mempertahankan warna ungu kristal violet (gram positif), sedangkan *Escherichia coli* tidak mempertahankan warna tersebut dan diwarnai dengan safranin (Inayatullah et al., 2022). Proses inokulasi bakteri dilakukan setelah peremajaan untuk memastikan bakteri dalam keadaan aktif (Azzahra et al., 2024).

Sebelum pengujian, suspensi bakteri dibuat dalam larutan NaCl fisiologis 0,9%, yang berfungsi untuk menjaga kondisi isotonic bakteri. Kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin, sementara kontrol negatif menggunakan DMSO, yang diketahui tidak memiliki efek hambatan pada bakteri uji (Retnaningtyas et al., 2017). Setelah media MHA dituang dan mengeras dalam cawan petri, suspensi bakteri diaplikasikan dengan cotton swab steril, kemudian kertas cakram yang berisi ekstrak diuji ditempatkan pada media. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C (Ratih & Yunita, 2023).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol pada konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* (27,78 mm) dan *Escherichia coli* (19,87 mm). Di sisi lain, ekstrak aseton pada konsentrasi 100% menunjukkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan etanol, dengan 19,55 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 16,52 mm untuk *Escherichia coli*. Hasil ini menunjukkan bahwa efektivitas antibakteri meningkat seiring dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, mengindikasikan bahwa senyawa antibakteri lebih kuat terkonsentrasi pada ekstrak etanol daripada aseton (Fajarizki et al., 2022). Efektivitas antibakteri ekstrak etanol yang lebih tinggi kemungkinan disebabkan oleh sifatnya sebagai pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar, seperti tanin dan alkaloid, sementara aseton yang bersifat semi-polar cenderung menarik senyawa polar dan semi-polar (B. T. Putri et al., 2022). Aktivitas antibakteri ini diduga berasal dari senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan steroid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Purwanto, 2015). Analisis statistik One Way Anova menunjukkan nilai $p=0,000$, yang menandakan perbedaan signifikan dari aktivitas antibakteri pada setiap konsentrasi ekstrak, membuktikan bahwa semakin tinggi kadar fenolik, semakin besar potensi aktivitas antibakterinya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kadar fenolik total dari ekstrak etanol daun alpukat mencapai $6,948 \pm 0,054$ mg GAE/g, sedangkan kadar fenolik total dari ekstrak aseton daun alpukat adalah $2,123 \pm 0,011$ mg GAE/g. Ekstrak etanol dan

aseton dari daun alpukat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Data hasil uji antibakteri dianalisis menggunakan SPSS dengan uji One Way ANOVA, yang menunjukkan nilai $P < 0,005$. Hasil ini mengindikasikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam efek antibakteri antara ekstrak etanol dan ekstrak aseton terhadap zona hambat yang dihasilkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih banyak kepada Bapak/Ibu pembimbing atas bimbingan dan dukungan yang luar biasa selama proses penelitian ini. Bapak/Ibu telah memberikan arahan yang sangat berharga, membantu saya mengatasi berbagai tantangan, dan memandu saya menuju capaian akhir yang memuaskan. Terima kasih sekali lagi atas dedikasi dan kesabaran Bapak/Ibu dalam membimbing saya.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, D. M. (2023). Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) yang Berasal Dari Provinsi Riau (Pekanbaru) [S1 Farmasi STIFAR Riau]. //pustaka.stifar-riau.ac.id%2Findex.php%3Fp%3Dshow_detail%26id%3D4175%26keywords%3D
- Anggorowati, D. A., Priandini, G., & Thufail, T. (2016). Potensi Daun Alpukat (*Persea Americana* Miller) Sebagai Minuman Teh Herbal Yang Kaya Antioksidan. *Industri Inovatif : Jurnal Teknik Industri*, 6(1), Article 1.
- Anggun, D., Gunarti, N. S., & Fikayuniar, L. (2022). Perbedaan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Berdasarkan Perbedaan Ketinggian Tempat Tumbuh. *Pharma Xplore : Jurnal Sains dan Ilmu Farmasi*, 7(2), Article 2. <https://doi.org/10.36805/jpx.v7i2.2892>
- Atmojo, A. T. (2016, June 3). Media Mueller Hinton Agar. Indonesian Medical Laboratory. <https://medlab.id/media-mueller-hinton-agar/>
- Azzahra, F., Putri, V. M., Utami, A., & Astuti, F. (2024). Perbandingan Rendemen Dan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana*) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 24(2), Article 2. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v24i2.1301>
- Ernawati, & Sari, K. (2015). Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea Americana* P.Mill) Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. *JURNAL KAJIAN VETERINER*, 3(2), Article 2. <https://doi.org/10.35508/jkv.v3i2.1043>
- Fajarizki, G. R., Tandji, J., Tuldjanah, M., & Magfirah, M. (2022). Penetapan Kadar Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Farmakologika : Jurnal Farmasi*, 19(1), Article 1.
- Inayatullah, N., Kemala, T., & Suparto, I. H. (2022). Potential for Antibacterial Activity of Chitosan-Polyvinyl Alcohol Membrane Loaded with Green Grass Jelly Leaf and Moringa Leaf Extract as a Wound Dressing. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 25(4), 146–154.
- Katja, D. G., Suryanto, E., & Wehantouw, F. (2019). Potensi daun alpukat (*Persea americana* mill) sebagai sumber antioksidan alami. *Chemistry Progress*, 2(1), 58–64.
- Khafipah, N., Saula, L. S., & Kasasiah, A. (2022). Aktivitas Ekstrak Daun Alpukat dan Ekstrak Daun Mengkudu sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Farmasetis*, 11(2), Article 2.
- Kolopita, P. S., Hariyadi, H., Sambou, C. N., & Tulandi, S. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Kulit Batang Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

- Dan *Escherichia coli*. *Majalah INFO Sains*, 3(1), Article 1. <https://doi.org/10.55724/jis.v3i1.46>
- Pontoan, J. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Dan Tabir Surya Dari Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* M.). *INDONESIA NATURAL RESEARCH PHARMACEUTICAL JOURNAL*, 1(1), Article 1. <https://doi.org/10.52447/inspj.v1i1.241>
- Purwanto, S. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2(2), Article 2.
- Putri, B. T., Chusniasih, D., & Nofita, N. (2022). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Aseton Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, 9(4), Article 4. <https://doi.org/10.33024/jikk.v9i4.8600>
- Putri, N. P. D. P., Sari, N. K. Y., & Permatasari, A. A. A. P. P. (2023). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc var. *Rubrum*). *JURNAL KESEHATAN, SAINS, DAN TEKNOLOGI (JAKASAKTI)*, 2(3). <https://doi.org/10.36002/js.v2i3.2692>
- Rahmah, R., Rahayu, R., Ridwanto, R., & Daulay, A. S. (2023). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode DPPH. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 9–25. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i5-si.369>
- Ratih, L. P. A., & Yunita, S. N. M. (2023). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Body Butter Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *Journal Pharmactive*, 2(1), Article 1.
- Retnaningtyas, Y., Hamzah, M. H., & Kristiningrum, N. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Daun Kopi Arabika (*Coffea arabica*) dan Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Indonesia Vol*, 9(1). <https://www.academia.edu/download/72742871/220.pdf>
- Sitorus, F. C. E., Wulansari, E. D., & Sulistyarini, I. (2020). Uji Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Asam Paya (*Eleiodoxa Conferta* (Griff.) Burret) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Media Farmasi Indonesia*, 15(2), Article 2. <https://doi.org/10.53359/mfi.v15i2.163>
- Surya, A., Nazir, Z., & Syazulfa, A. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Alpukat Menggunakan Metode DPPH. *Photon: Journal of Natural Sciences and Technology*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.37859/jp.v11i2.2225>
- Talha, J., Priyanka, M., & Akanksha, A. (2011). Hypertension and herbal plants. *Int Res J Pharm*, 2(8), 26–30.
- Thamlikitkul, V., & Tiengrim, S. (2008). Effect of different Mueller–Hinton agars on tigeicycline disc diffusion susceptibility for *Acinetobacter* spp. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(4), 847–848. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn267>
- Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2017). Ekstraksi Komponen Bioaktif Daun Alpukat dengan Bantuan Ultrasonik pada Berbagai Jenis dan Konsentrasi Pelarut. *agriTECH*, 37(2), Article 2. <https://doi.org/10.22146/agritech.10397>
- Widarta, I. W. R., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Aktivitas Antioksidan Daun Alpukat. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 80–85. <https://doi.org/10.17728/jatp.3361>