

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *In Vitro*

Chintya Dewi Novyanti Arintonang*, Prasetyo Adi **, Novi Khila Firani**, Ambar Puspitasari***

* Mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

**Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Departemen Biokimia

***Dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak

Email: chintyaarintonang20@gmail.com

ABSTRAK

Periodontitis agresif adalah penyakit rongga mulut yang disebabkan oleh bakteri patogen periodontal, terutama *Aggregatibacter actinomycetem-comitans*. Salah satu bahan yang memiliki sifat sebagai antibakteri adalah daun alpukat karena mengandung senyawa flavonoid, fenol, saponin, alkaloid, dan tannin. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mempelajari efektivitas ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana mill*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan *true experiment* dengan pendekatan *post test only control group design*, menggunakan metode difusi sumuran untuk membuktikan kemampuan antibakteri ekstrak etanol daun alpukat. Konsentrasi daun alpukat yang digunakan adalah 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, aquades sebagai kontrol negatif, dan *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif. Hasil analisis data menggunakan *One-way ANOVA* menunjukkan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti adanya perbedaan yang signifikan antara pemberian ekstrak daun alpukat dalam berbagai konsentrasi terhadap zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hasil uji Korelasi *Pearson* didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti meningkatnya konsentrasi ekstrak daun alpukat dapat meningkatkan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hal ini terjadi karena adanya peningkatan konsentrasi ekstrak daun alpukat, maka kandungan kimia aktif di dalam ekstrak daun alpukat juga meningkat. Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak daun alpukat tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetem-comitans* secara *in vitro*.

Kata Kunci: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, ekstrak daun alpukat, zona hambat, difusi sumuran

ABSTRACT

Aggressive periodontitis is periodontal disease caused by periodontal pathogenic bacteria, especially *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. One of ingredient that has antibacterial properties is avocado leaves extract because it contains compounds of flavonoids, phenols, saponins, alkaloids, and tannins. The purpose of this research was to studying the effectiveness of avocado leaves (*Persea americana mill*) ethanol extract in inhibiting the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria by *in vitro*. This research used *true experiment* with the *post test only control group design* approach, with a well diffusion method to determine inhibition zones of bacterial. The concentrations of avocado leaves used were 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, aquades as negative control, and *chlorhexidine gluconate* 0.2% as positive control. The result of data analysis used *One-way ANOVA* with a significance value of 0,000 ($p < 0,05$) which showed a significant difference between the avocado leaf extract in various concentrations against the inhibition zone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria. The *Pearson Correlation* test results obtained a significance value of 0,000 ($p < 0,05$) which means that increasing the concentration of avocado leaf extract can increase the inhibition zone diameter of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria. This occurs because of an increase in the concentration of avocado leaf extract, so the active chemical content in avocado leaves extract also increases. The conclusion of this study is avocado leaf extract is not effective in inhibiting the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bacteria *in vitro*.

Keywords: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, avocado leaf extract, inhibition zone, well diffusion

PENDAHULUAN

Penyakit gigi dan mulut menempati peringkat sepuluh besar penyakit terbanyak di Indonesia.^[1] Menurut studi Global Burden of Disease terbaru, kerusakan gigi yang tidak dirawat adalah penyakit yang paling sering terjadi dari 291 penyakit utama dan cedera. Penyakit periodontal adalah penyakit keenam yang paling sering terjadi.^[2]

Penyakit periodontal meliputi gingivitis dan periodontitis, dimana periodontitis lebih banyak terjadi. Penyakit periodontal dapat disebabkan atau diperparah oleh faktor lokal yaitu koloni bakteri pada plak gigi.^[3] Salah satu macam penyakit periodontitis adalah periodontitis agresif. Periodontitis agresif merupakan salah satu tipe penyakit periodontitis yang ditandai dengan hilangnya perlekatan jaringan ikat dan kerusakan tulang alveolar secara cepat pada lebih dari satu gigi permanen, dengan tidak adanya akumulasi plak dan kalkulus yang signifikan.^[4] Periodontitis agresif paling sering ditemukan pada individu yang lebih muda tetapi dapat juga terjadi pada usia berapa pun yang dapat disebabkan oleh bakteri pathogen periodontal, terutama *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.^[5]

Aggregatibacter actinomycetemcomitans umumnya ditemukan pada plak gigi, poket periodontal, dan sulkus gingival.^[6] *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a) adalah bakteri eksogen yang menyebabkan infeksi, dan dapat terjadi pada individu yang terpapar. Ini berhubungan dengan periodontitis pada individu muda dan terjadi pada 90% periodontitis agresif lokal dan 30-50% pada periodontitis berat pada dewasa. Bakteri A.a memiliki kemampuan untuk menghasilkan faktor virulensi.^[7]

Terapi yang dapat dilakukan ini untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis agresif berupa kontrol plak, scaling dan root planning, pemberian antibiotik dan tindakan pembedahan.^[8] Kontrol plak dapat dilakukan dengan obat kumur yang mengandung antimikroba seperti *chlorhexidine*. Namun penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping seperti adanya perubahan persepsi rasa, perubahan warna pada gigi, dan menimbulkan reaksi hipersensitivitas.^[9] Oleh karena itu perlu dikembangkan bahan lain diantaranya tanaman obat yang memiliki khasiat antibakteri dengan efek

samping minimal, seperti daun alpukat.

Penelitian terdahulu menyatakan buah dan daun alpukat mengandung saponin, alkaloid, dan flavonoid.^[10] Daun alpukat memiliki kandungan fitokimia berupa flavonoid, polifenol, saponin, tannin dan alkaloid. Dari kandungan daun alpukat tersebut khususnya golongan flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antifungi, antiviral dan antibakteri.^[11] Sebelumnya telah dilakukan penelitian yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak daun alpukat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sebesar 17,5%.^[12] Ekstrak daun dan biji alpukat (*Persea americana Mill.*) juga efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 80%.^[13]

Berdasarkan latar belakang diatas maka perlu dilakukan penelitian ini untuk membuktikan efek pemberian dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea Americana Mill*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

1. Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian experimental laboratorik *in vitro* menggunakan desain *true experimental post control group only*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran untuk membuktikan kemampuan antibakteri ekstrak etanol daun alpukat (*Persea Americana mill*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi dengan jumlah pengulangan sebanyak 4 kali.

2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

3. Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana Mill*) dalam berbagai konsentrasi.

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yaitu dengan melihat Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi terendah ekstrak etanol daun alpukat yang ditandai oleh tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri.

4. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*)

Prosedur pembuatan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) dilakukan menggunakan metode maserasi. Pertama melakukan penimbangan serbuk sebanyak 1 kilo gram, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Serbuk daun alpukat didam dengan larutan etanol sebanyak 5 liter dan ditutup dengan aluminium foil dibiarkan selama 3 hari sambil sesekali diaduk, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Hasil maserasi tersebut dikentalkan dengan menggunakan alat *vacum rotary evaporator* selama 4 jam dengan suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak kental. Selanjutnya dihitung persen rendemen. Pembuatan larutan uji dinyatakan dalam bentuk konsentrasi larutan yang akan digunakan.

b. Identifikasi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Identifikasi bakteri menggunakan pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri tersebut termasuk Gram positif atau Gram negatif. Bakteri gram positif mempertahankan warna dasar setelah dilakukan proses pelunturan (decolorized) dengan alkohol 96%, dan bakteri gram negatif adalah bakteri yang mengambil warna pembeding setelah proses pelunturan dengan alkohol 96%.^[14] Tahapan pewarnaan Gram yaitu dengan membuat suspensi air suling dan koloni bakteri pada onject glass dan dikeringkan di udara. Sediaan yang telah kering difiksasi di atas api Bunsen. Kemudian Sediaan dituangi larutan kristal violet selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir. Sediaan dituangi larutan lugol selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir. Tahap terakhir yaitu sediaan dituangi safranin, diamkan selama 30 detik lalu bilas dengan air, kemudian dikeringkan dengan kertas penghisap, ditetesi minyak emersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil pada bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan Gram negatif berbentuk kokobasil yang akan menunjukkan warna merah.^[15]

Uji katalase dilakukan dengan cara menambahkan larutan H₂O₂ 3% pada perbenihan cair. Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil tes katalase positif melalui timbulnya gelembung-gelembung udara.^[15]

Uji oksidase bertujuan untuk mengetahui adanya enzim *cytochrome oxidase* pada bakteri yang diuji. dilakukan dengan cara mengambil koloni dari media padat kemudian digoreskan pada kertas filter yang telah diberi reagen oksidase yaitu tetrametil p-fenilendiamin dihidroklorida 1% dan amati hasilnya. Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil positif yaitu berubah menjadi warna ungu, ungu tua sampai kehitam-hitaman.^[16]

Uji agar MacConkey bertujuan untuk membedakan bakteri gram negative yang memfermentasi laktosa. Tahapan yang dilakukan yaitu inokulasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan metode streaking pada media MacConkey agar, kemudian menginkubasikan pada incubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati hasilnya. Bila tampak perubahan warn menjadi merah pada koloni bakteri, artinya bakteri uji memfermentasikan laktosa. Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan tidak ada perubahan warna yang menunjukkan hasil tidak memfermentasikan laktosa.^[16]

Uji hemolisis bertujuan untuk mengetahui sifat hemolisis dari bakteri yang diuji dengan metode streaking pada media *Blood Agar Plate (BAP)*. Tahapan uji hemolisis yaitu dengan menyiapkan agar darah (*blood agar*) pada petridisc steril, kemudian menanam bakteri A.a pada media agar dengan ose steril menggunakan metode gores(streak). Inkubasikan bakteri pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam lalu diamati hasilnya. Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* akan menunjukkan reaksi beta hemolisis (β) atau hemolisis total yang ditandai dengan adanya zona jernih di sekitar koloni bakteri.^[17]

c. Persiapan Suspensi

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang telah diidentifikasi dibiakkan dengan menggunakan media *Brain Heart Infusion Broth (BHIB)* selama 24 jam pada suhu 37° C. Media BHIB berisi bakteri dimasukkan ke dalam spektrofotometer kemudian diukur *Optical Density (OD)* atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda_{maks} = 625 \text{ nm}$ setara dengan standar 0,5Mc Farland. Dari hasil yang diperoleh (OD = 0,1) didapat suspensi bakteri yang

mengandung 1×10^8 CFU/ml, kemudian dibuat suspensi bakteri uji yang mengandung 1×10^8 CFU/ml. Pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 10^8 CFU/ml) untuk dicampur dengan NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml. Proses dilakukan sekali lagi hingga mencapai konsentrasi suspensi bakteri yang digunakan untuk tes yaitu $0,5 \times 10^6$ hingga $2,5 \times 10^6$ CFU/ml.

d. Uji Pengaruh ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) dalam menghambat *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan Metode Difusi Sumuran

Suspensi yang telah disiapkan dengan mengikuti standar Mc. Farland sebanyak 1 ml dimasukkan dalam cawan petri steril dan dituangkan media BHIA sebanyak 15 ml, campuran tersebut dibiarkan hingga memadat, kemudian membuat sumur pada media agar menggunakan pipet pasteur steril yang telah dimodifikasi menjadi diameter 6mm. Pada sumur ini diisi tiap konsentrasi ekstrak daun alpukat yang akan diuji, kontrol positif (*chlorhexidine gluconate* 0,2%), dan kontrol negatif (aquades). Setelah selesai, seluruh cawan petri dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37° C selama 18-48 jam kemudian diamati hasilnya. Zona hambat yang tampak pada setiap agar diukur dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris.^[17]

e. Analisis Data

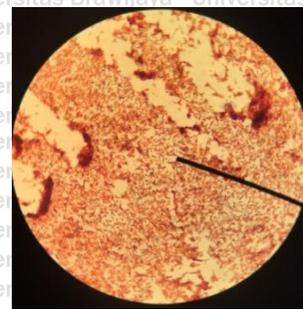
Data pertumbuhan koloni bakteri berdasarkan konsentrasi ekstrak etanol daun dilihat dari pertumbuhan koloni pada agar, dan dianalisis secara statistik menggunakan *Statistic Product of Service Solution* (SPSS). Uji normalitas data menggunakan *Saphiro-Wilk* dan dilakukan uji homogenitas data menggunakan *lavene's test*. Analisis data dilanjutkan menggunakan uji statistik parametrik yaitu *one way ANOVA*, uji korelasi Pearson, dan regresi linier.

HASIL PENELITIAN

1. Hasil Penelitian *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Hasil dari uji pewarnaan gram diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. Uji pewarnaan gram bakteri A.a menghasilkan gambaran mikroskopik bakteri dengan bentuk

kokobasil dengan warna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif.



Gambar 1. Pewarnaan Gram *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil tes katalase positif melalui timbulnya gelembung-gelembung udara, yang menunjukkan adanya enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri



Gambar 2. Uji Katalase *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Uji oksidase dilakukan dengan cara mengambil koloni dari media padat kemudian digoreskan pada kertas filter yang telah diberi reagen oksidase yaitu tetrametil p-fenilendiamin dihidroklorida 1%. Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil positif yaitu berubah menjadi warna ungu, yang menunjukkan adanya enzim cytochrome oxidase pada bakteri yang diuji.



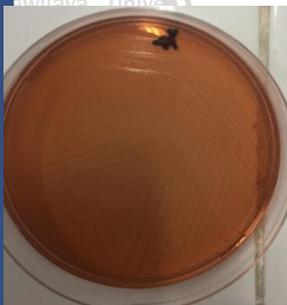
Gambar 3. Uji oksidase *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Uji MacConkey dilakukan dengan cara inokulasi bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan metode streaking pada media McConkey agar. Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan tidak ada perubahan warna, yang menunjukkan hasil tidak memfermentasikan laktosa.



Gambar 4 Uji MacConkey *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Uji Hemolisis dilakukan dengan metode streaking pada media *Blood Agar Plate* (BAP). Tahapan uji hemolisis yaitu dengan menginkubasikan bakteri pada inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil pada bakteri uji *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan adanya zona jernih di sekitar koloni bakteri, yang menunjukkan reaksi beta hemolisis (β) atau hemolisis total.



Gambar 5 Uji Hemolisis *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

2. Hasil Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) yaitu 1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%. Hasil penelitian pendahuluan yaitu pada konsentrasi 1%, 10%, 20%, 30%, dan 40% adalah 0 mm, pada konsentrasi 50% adalah 7,5 mm, pada konsentrasi 60% adalah 10mm, pada

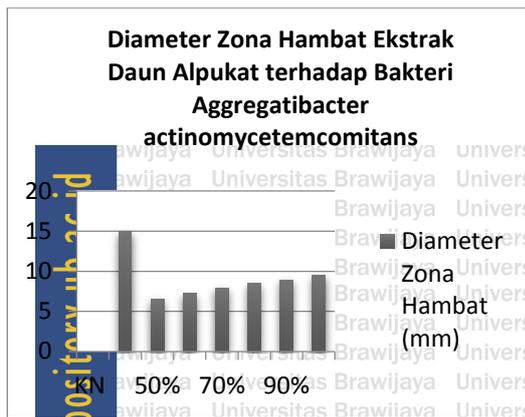
konsentrasi 70% adalah 10,3 mm, pada konsentrasi 80% adalah 10,6 mm, pada konsentrasi 90% adalah 11,1 mm, pada konsentrasi 100% adalah 11,2 mm, pada kontrol negatif adalah 0 mm, dan pada kontrol positif adalah 16,4mm.

3. Hasil Uji Pengulangan

Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)				
	I	II	III	IV	Rata-rata
Aquadest (KN)	0	0	0	0	0
Chlorhexidine gluconate 0,2% (KP)	14,6	15,5	15,2	14,5	14,95
50%	7,1	5,5	7,8	5,7	6,525
60%	7,1	7,1	6,4	8,4	7,25
70%	7,7	7,5	8,3	8,2	7,925
80%	7,5	8,2	9,3	9	8,5
90%	9,1	8,9	9,3	8,4	8,925
100%	9,6	9,4	9	9,8	9,45

Tabel 1. Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Alpukat

Berdasarkan tabel 1 diatas dapat dilihat adanya perbedaan rerata diameter zona hambat ekstrak daun alpukat terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan metode difusi sumuran yang menunjukkan adanya perbedaan pada setiap perlakuan yang diberikan. Kelompok perlakuan dengan aquades (kontrol negatif) tidak terdapat zona hambat, sehingga hal tersebut menunjukkan bahwa aquades tidak memiliki efek antibakteri. Kelompok ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan clorhexidine 0,2% (kontrol positif) terdapat zona hambatan, dengan demikian ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi tersebut dan clorhexidine 0,2% memiliki efek antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hasil tersebut dapat dilihat pada grafik sebagai berikut (Gambar 7)



Gambar 7 Grafik Rerata Zona Hambat Ekstrak Daun Alpukat Terhadap Bakteri Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi menggunakan *Shapiro-Wilk* adalah 0,268 ($p > 0,05$) sehingga data dinyatakan berdistribusi normal. Untuk uji *Levene* menunjukkan angka signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) yaitu 0,304 sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data pada penelitian tersebut memiliki varian yang sama (homogen). Data rerata pH saliva buatan memenuhi persyaratan untuk dilakukan uji statistika parametrik. Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *One way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan pada diameter zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak daun alpukat terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hasil uji *ANOVA* menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara ketujuh kelompok perlakuan yaitu aquades (kontrol negatif), Clorhexidine 0,2% (kontrol positif) dan ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Hasil Uji *Post Hoc* yang diperoleh yaitu terdapat perbedaan signifikan pada perbandingan kontrol negative (aquades) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Perbandingan kelompok kontrol positif (*chlorhexidine gluconat* 0,2%) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan kontrol negatif (aquades) didapatkan hasil yang signifikan. Konsentrasi daun alpukat 50% memiliki perbedaan zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Konsentrasi daun alpukat 60%

memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Konsentrasi daun alpukat 70% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 90%, dan 100%. Konsentrasi daun alpukat 80% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan konsentrasi 50%. Konsentrasi daun alpukat 90% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan konsentrasi 50% dan 60%. Konsentrasi daun alpukat 100% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan konsentrasi 50%, 60% dan 70%.

Uji Korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui hubungan dari pemberian ekstrak daun alpukat terhadap diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hasil uji Korelasi *Pearson* menunjukkan bahwa terdapat hubungan (korelasi) antara pemberian ekstrak daun alpukat terhadap diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0,05$). Adapun kekuatan korelasi yaitu $r = 0,956$ dengan arah korelasi positif. Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun alpukat semakin tinggi konsentrasi akan menghasilkan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang semakin besar.

Dilakukan uji Regresi untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data. Uji Regresi berfungsi untuk mengetahui seberapa besar hubungan konsentrasi ekstrak daun alpukat terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa R square 0,914 atau sebesar 91,4%. Angka tersebut menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak daun alpukat terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah sebesar 91,4%, sedangkan sisanya sebesar 8,6% dapat disebabkan karena faktor yang tidak diteliti.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang diperoleh pada penelitian ini dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% terdapat peningkatan zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* seiring dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan adanya data

bahwa daun alpukat mengandung bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Analisis data menggunakan uji statistik *one-way ANOVA* mendapatkan hasil uji nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang memiliki arti bahwa pemberian ekstrak daun alpukat memberikan perbedaan yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan metode difusi sumuran. Perbedaan diameter zona hambat daun alpukat terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* disebabkan oleh perbedaan senyawa kimia aktif antibakteri yang terdapat pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun alpukat, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun alpukat maka semakin tinggi kandungan yang ada sehingga zona hambat juga semakin besar. Zona hambat yang semakin besar disebabkan senyawa kimia pada ekstrak etanol daun alpukat memiliki daya hambat terhadap bakteri yaitu fenol, flavonoid, saponin, tannin, dan alkaloid. Kandungan senyawa kimia yang paling banyak pada ekstrak etanol daun alpukat yaitu flavonoid.^[11] Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel bakteri.^[18]

Hasil uji *Post Hoc Turkey* yang diperoleh yaitu terdapat perbedaan signifikan pada perbandingan kontrol negatif (aquades) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Perbandingan kelompok kontrol positif (*chlorhexidine gluconat* 0,2%) dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan kontrol negatif (aquades) didapatkan hasil yang signifikan. Konsentrasi daun alpukat konsentrasi 50% memiliki perbedaan zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Konsentrasi daun alpukat 60% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 80%, 90%, dan 100%. Konsentrasi daun alpukat 70% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 90%, dan 100%. Konsentrasi daun alpukat 80% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan konsentrasi 50%. Konsentrasi daun alpukat 90% memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan konsentrasi 50% dan 60%. Konsentrasi daun alpukat 100%

memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, dan konsentrasi 50%, 60% dan 70%. Perbedaan yang tidak signifikan antara konsentrasi dapat disebabkan oleh zat aktif antibakteri pada rentang antara konsentrasi yang berbeda tersebut hampir memiliki pengaruh yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri.^[19] Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak daun alpukat memiliki daya hambat terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, tetapi belum dapat menandingi kontrol positif (*chlorhexidine gluconat* 0,2%). Hal ini disebabkan *chlorhexidine gluconate* 0,2% memiliki daya antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi tertinggi yaitu konsentrasi 100%. *Chlorhexidine gluconat* 0,2% memiliki daya antibakteri yang tinggi karena kandungan fenol yang bersifat bakteriostatik dan bakterisid yang dapat mengendapkan sitoplasma bakteri sehingga menghasilkan kematian sel bakteri.^[20] *Chlorhexidine* merupakan molekul hidrofobik dan lipofilik bermuatan positif yang berinteraksi dengan fosfolipid dan lipopolisakarida pada membran sel bakteri, kemudian masuk ke dalam sel bakteri melalui beberapa jenis mekanisme transport aktif atau pasif. Mekanisme antibakteri *chlorhexidine* adalah karena adanya interaksi molekul bermuatan positif dengan gugus fosfat pada dinding sel bakteri yang bermuatan negatif sehingga mengubah keseimbangan osmotik sel bakteri.^[21]

Hasil uji Korelasi *Pearson* didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti meningkatnya konsentrasi ekstrak daun alpukat dapat meningkatkan diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hal ini terjadi karena adanya peningkatan konsentrasi ekstrak daun alpukat, maka kandungan kimia aktif di dalam ekstrak daun alpukat juga meningkat sehingga daya antibakteri ekstrak daun alpukat tersebut semakin tinggi.

Hasil uji regresi didapatkan angka 91,4% yang merupakan besar pengaruh pemberian ekstrak daun alpukat terhadap diameter zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Sisanya terdapat 8,6% yang merupakan faktor lain yang tidak diteliti seperti suhu, lama penyimpanan ekstrak, kelembaban, sinar matahari, pH, alat yang tidak steril, kebersihan udara ruangan, kadar bahan aktif ekstrak atau faktor lain yang dapat mempengaruhi penelitian.

Hambatan pada pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada penelitian ini disebabkan adanya kandungan penting daun alpukat yang dapat berfungsi sebagai antibakteri, yaitu flavonoid, fenol, saponin, tannin, dan alkaloid.^[11] Flavonoid memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energy.^[22] Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis.^[23] Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri meliputi penghambatan kolonisasi bakteri, penurunan tegangan permukaan medium ekstraseluler, atau dengan cara melisiskan membran sel bakteri.^[24] Efek antibakteri tanin memiliki kemampuan untuk mengendapkan protein, bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan fungsi dari genetik, menonaktifkan sel adhesi dan mengganggu transportasi protein di lapisan dalam sel.^[25] Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri dari bahan antimikroba alkaloid bekerja dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam proses replikasi DNA. Inhibisi replikasi DNA akan menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan sehingga menghambat pertumbuhan bakteri.^[26]

Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas sebagai antibakteri, seperti penelitian yang dilakukan oleh Sarinastiti (2018) yang menyatakan bahwa daun alpukat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilihat dari terbentuknya zona hambat.^[13] Penelitian lain yang dilakukan oleh Charyadie et al (2014) dengan hasil penelitian yaitu ekstrak daun alpukat memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat peningkatan zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* seiring dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan, tetapi pada konsentrasi daun alpukat 100% belum dapat menandingi *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa

hipotesis penelitian yang menyatakan ekstrak daun alpukat efektif dalam menghambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ditolak. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) tidak efektif dalam menghambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* karena daya antibakteri senyawa kimia pada ekstrak etanol daun alpukat lebih lemah dibandingkan dengan daya antibakteri *chlorhexidine gluconate* 0,2% yang memiliki sifat bakteriostatik dan bakterisid yang dapat menyebabkan kematian sel bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak daun alpukat tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara in vitro
2. Zona hambat ekstrak daun alpukat terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* mulai terdapat pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%
3. Terdapat hubungan antara konsentrasi dengan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, yaitu terdapat peningkatan zona hambat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* seiring dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang toksisitas dan efek samping ekstrak daun alpukat
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas ekstrak daun alpukat (*Persea Americana* Mill) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara in vitro dengan metode dan konsentrasi yang berbeda untuk mendapatkan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari senyawa mayor yang dimiliki ekstrak daun alpukat (*Persea Americana* Mill) manakah yang berperan penting sebagai antibakteri terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Info Datin Pusat Data dan Infomasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
2. World Health Organization. 2015. Prevention is better than treatment. *Bulletin of the World Health Organization*. 93:594-595. Tersedia pada: <https://www.who.int/bulletin/volumes/93/9/15-020915/en/> (diunduh pada 12 oktober 2018)
3. Orgendrik, M. 2012. *Periodontopathic Bacterial Infection*, Jonh Hopkins Medicine USA.
4. YingGu & Ryan E.Maria. 2010. Overview of periodontal disease: cause pathogenesis and characteristics. *Periodontal Disease and overall Health: A Clinician's Guide*. Hal : 5-21
5. Newman, M. T., Takei, H. H., Klokkevold, P. R., Carranza, F. A., 2018. *Clinical Periodontology* 13th Ed, Elsevier, California. Hal. 635
6. Ragavendran, R., P. V., Ramya Paddmanabhan. 2015. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans: its Role in Periodontitis*. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 8(Sp1. Edn):Hal. 249-252
7. Raja, Manoj, Ummer, Fajar, Dhivakar, C.P. 2014. Tersedia dari *Journal of Clinical & Diagnostic Research*.: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4190817/> . diunduh pada tanggal 14 Agustus 2018
8. Andriani, I. 2012. Efektivitas Antara Scaling Root Planing (Srp) Dengan dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacin Per Oral pada Penderita Periodontitis. *IDJ*. 1(2): 81-89
9. Berliana, A. N. 2018. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) [Tugas Akhir]. . Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Jember. Hal. 2
10. Arisandi, Y, dan Y Andiriani. 2009. *Khasiat Berbagai Tanaman Untuk Pengobatan*. Jakarta: Eska media
11. Arukwe, U., B.A. Amadi, M.K.C Duru, E.N Agomuo, E.A Adindu, P.C Odika, K.C Lele, L Egejur, J. Anudike, and J. E Bauer. 2012. *Chemical Composition of Persea Americana Leaf, Fruit And Seed*. *IJRRAS*.
12. Ismiyati, N. dan Trilestari. 2014. Pengembangan Formulasi Masker Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* Untuk Pengobatan jerawat. *Pharmaciana*.
13. Sarinastiti, Nia. 2018. Perbandingan Efektivitas Ekstrak Daun Dan Biji Alpukat (*Persea americana Mill.*) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Raden Intan. Lampung. Hal 55,90
14. Artyanarsari, Eien. 2016. Eektivitas Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveole L.*) Sebagai Antimikroba dalam Menghambat Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Secara In Vitro. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya Malang. Hal 29
15. Azizah, Fanny Risqi. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea Americana Mill*) dalam menghambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Secara In Vitro. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan., Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
16. Ningrum, Ayu Kusuma. 2018. Potensi Ekstrak Etanol Daun Srikaya (*Annona squamosa*) dalam Menghambat *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang. Hal. 28-29
17. Nicolas, Franklyn C. 2018. Efektivitas ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antibakteri terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pembentuk Biofilm secara *invitro*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, Malang. Hal. 28, 30-31
18. Bujung, Anggriana H., Heriyannis H., Johanna A. K. 2017. Uji daya hambat ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana Mill.*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GiGi (eG)*, Vol. 5 (2): 112
19. Ariffurahman. 2017. Pngaruh Ekstrak etanol Daun Labu Siam (*Sechium edule (Jacq.) Swartz*) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Penyebab Periodontitis. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah. Surakarta. Hal. 7
20. Taliningrum, Klis. K. 2015. Perbedaan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) sebagai Bahan Obat Kumur terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus sanguis In vitro*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta
21. Fatmala, Rona. 2015. Pengaruh Konsentrasi

Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana Linn*) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Surakarta

22. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskocjan E. 2011. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *Int J Mol Sci*.12(6): 3422-3431
23. Rijayanti, R. P. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak
24. Zahro, Latifatuz, Rudiana, Agustini. 2013. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia Coli*. *UNESA Journal of Chemistry*, vol.2(3)
25. Dennis, Nurliza, C., Savitri, Wulandari. 2017. Antibacterial effect of ethanol extract of the avocado seed (*Persea Americana* Mill.) as an alternative root canal Irrigants against *Porphyromonas Gingivalis* (*In Vitro*). 3(1): 89-93
26. Ernawati, Sari, K. 2011. Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* P.Mill) Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. vol.3(2): 203-21
27. Charyadie, Felina L., Soegijanto A., Rima P. S. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana, Mill.*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Jurnal Kedokteran Gigi Denta*, vol.8(1)