

## ABSTRAK

Dhoni Dasa Gusta 2017. **Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana Mill.*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* Secara *In Vitro***. Tugas Akhir, Jurusan Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembimbing (1) dr. Dewi Erikawati, MSi (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed

*Escherichia coli* merupakan bakteri mikroflora di dalam usus manusia yang menjadi salah satu penyebab utama terjadinya diare dan penyakit infeksi lainnya. Bakteri ini dapat menimbulkan manifestasi klinis yang berbeda-beda tergantung pada tempat di kolonisasi. Oleh karena itu, dibutuhkan pengobatan yang dapat mengatasi infeksi dari *E.coli*. Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) yang sudah banyak dikonsumsi ternyata juga memiliki banyak manfaat sebagai antimikroba. Bijinya juga sarat akan kandungan zat aktif sebagai antimikroba. Biji Alpukat memiliki kandungan flavonoid, saponin, tannin, steroid, alkaloid, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek ekstrak biji alpukat sebagai antimikroba terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran untuk menentukan efek aktivitas antimikroba ekstrak biji alpukat pada pertumbuhan *Escherichia coli*. Ekstrak biji alpukat dibuat menggunakan metode ekstraksi maserasi menggunakan etanol. Konsentrasi ekstrak biji alpukat yang digunakan adalah 50%,60%,70%,80%,90%,100% yang diterapkan pada metode difusi sumuran. Hasil Uji One-Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat terhadap zona inhibisi pertumbuhannya *Escherichia coli* ( $p=0,000$ ). Uji korelasi menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan zona inhibisi pertumbuhan *Escherichia coli* (Korelasi,  $R=0,983$ ,  $p=0,000$ ). Berdasarkan hasil diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji alpukat memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci : antimikroba, *Escherichia coli*, biji alpukat, *Persea americana* Mill.

## ABSTRACT

Dhoni Dasa Gusta 2017. **Avocado Seed Extract (*Persea Americana* Mill.) As Antimicrobial Against *Escherichia coli***. Final Assignment, Medical Education, Faculty of Medicine, Brawijaya University . Supervisors (1) dr. Dewi Erikawati, MSi (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed

*Escherichia coli* is the cause of diarrhea in the air and other infectious diseases. These bacteria can cause different clinical manifestations depending on where in the colonization. Therefore, necessary treatment that can manage the infection *E.coli*. Avocado plants (*Persea americana* Mill.) used to antimicrobial agent. The seeds also contain active substances as antimicrobials. Avocado seeds contain flavonoids, saponin, tannins, steroids, alkaloids, and terpenoids. This study aims to prove the effect of avocado seed extract as an antimicrobial against *Escherichia coli* in vitro. The method used is a well-known diffusion method to determine the antimicrobial effects of avocado seed extract on *Escherichia coli* growth. Avocado seed extract was done by using the method of maceration extraction by using ethanol. The concentration of avocado seed extract used was 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% applied to the well diffusion method. One-way ANOVA test results showed significant differences in the concentration of ethanol extract of avocado seed against *Escherichia coli* inhibiting zone ( $p = 0.000$ ). *Escherichia coli* (Correlation,  $R = 0.983$ ,  $p = 0,000$ ). Based on the above results, it can be concluded that the avocado seed extract has an antimicrobial effect on *Escherichia coli* bacteria.

Keyword : antimicrobial, *Escherichia coli*, avocado seed, *Persea americana* Mill.

## PENDAHULUAN

*Escherichia coli* merupakan bakteri famili dari *Enterobacteriaceae* yang menjadi mikroflora di dalam usus manusia. *Escherichia coli* biasanya tidak menyebabkan penyakit tetapi dapat menjadi patogen ketika mereka mencapai jaringan di luar intestinal normal. Kebanyakan tempat yang sering mengalami infeksi klinis adalah saluran kencing, sistem biliary dan tempat lain yang berada didalam rongga perut. Terlebih lagi bakteri ini dapat menyebabkan sepsis apabila menginfeksi inang yang sistem imun tubuhnya sedang menurun seperti balita, lansia, pasien yang menerima pengobatan immunosupresan, pasien yang menjalani pemasangan kateter, dan pasien yang menjalani pemasangan infus.<sup>1</sup>

Penularan *Escherichia coli* biasanya ditandai dengan kebiasaan sanitasi yang buruk. Penularannya juga bisa dengan berbagai cara, yaitu dari tangan ke mulut maupun dari makan yang kurang dijaga kebersihannya (Lestari *et al*, 2015). Hal ini didukung oleh banyaknya kasus diare yang terjadi disekitar kita. Apalagi di negara berkembang, diare menyumbang angka kematian dan kesakitan yang tinggi. Di tahun 2000 saja ada 4 milyar kasus diare di dunia dimana 2,2 juta diantaranya meninggal, dengan penderita terbanyak adalah anak usia 5 tahun.<sup>2</sup>

Sudah berpuluh-puluh tahun, kita telah mengenal tanaman herbal sebagai obat alami untuk berbagai macam penyakit, salah satunya adalah buah alpukat. Buah alpukat berasal dari Amerika Tengah yang dapat dibudidayakan di iklim tropis dan subtropis di seluruh dunia. Tanaman ini dapat dijadikan untuk

obat tradisional yang dapat menyembuhkan beberapa penyakit seperti : mens yang tidak teratur, hipertensi, diabetes, diare, bronkitis, dan sakit perut (Yassir, 2010). Selain penyakit yang telah disebutkan, buah alpukat juga terbukti memiliki efek antimikroba terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* melalui mekanisme peptida antimikrobia.<sup>3</sup>

Selain buahnya, biji alpukat juga kaya akan kandungan zat aktif. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ditemukan senyawa polifenol, tanin, flavonoid, triterpenoid, kuinon, monoterpenoid, dan seskuiterpenoid. Kulit dan daun alpukat yang diekstraksi dengan ethanol juga sarat kandungan saponin, flavonoid, terpenoid, *cardiac glycoside*, dan alkaloid. Kandungan zat aktifnya berfungsi sebagai antimikroba, menghambat pertumbuhan bakteri, dan antioksidan.<sup>3</sup>

Berdasarkan beberapa informasi di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan dan lebih terfokus untuk mengetahui apakah ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) yang tumbuh di Indonesia memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Ekstrak biji alpukat diharapkan nantinya dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk penyakit infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *Escherichia coli* karena memiliki kandungan zat aktif seperti saponin, tanin dan alkaloid yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri.

## METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan desain *post test control group*. Uji antimikroba ini untuk mengetahui apakah konsentrasi ekstrak biji alpukat dapat mempengaruhi isolat bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran.

## HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan stok kultur bakteri *Escherichia coli* yang ada di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Berbagai uji reidentifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang diduga adalah memang bakteri *Escherichia coli*. Beberapa tes reidentifikasi adalah berupa tes makroskopis, mikroskopis, dan biokimia. Identifikasi makroskopis adalah berupa pembiakan bakteri *Escherichia coli* pada media selektif yaitu *Eosin Methylene Blue Agar*. Identifikasi mikroskopis adalah berupa pengecatan Gram pada bakteri *Escherichia coli*, sedangkan identifikasi biokimia menggunakan *Microbact 12A*.

Hasil identifikasi secara makroskopis dengan membiakkan bakteri *Escherichia coli* pada media selektif *eosin methylene blue agar*. Didapatkan bentukan koloni *green metallic sheen*. Pada uji mikroskopis yang dilakukan dengan cara pengecatan Gram pada bakteri *Escherichia coli*, didapatkan bentukan bakteri batang berwarna merah.

Pada identifikasi biokimia dilakukan menggunakan

*Microbact 12A/E*. Sebelum melakukan uji tersebut, uji katalase dan oksidase dilakukan terlebih dahulu. Pada uji katalase apabila isolat bakteri yang diduga adalah *Escherichia coli*, maka akan muncul gelembung yang menandakan katalase positif. Pada uji oksidase apabila isolat bakteri yang diduga adalah *Escherichia coli*, maka kertas pereaksi tidak akan berubah menjadi warna ungu yang menandakan negatif.

Uji sentivitas antimikroba ekstrak etanol biji alpukat terhadap *Escherichia coli* yang menggunakan konsentrasi 50%,60%,70%,80%,90%,dan 100% serta satu kontrol negatif yang artinya tanpa pemberian ekstrak biji alpukat yang berarti konsentrasi 0% yang nantinya akan didapatkan tidak terbentuknya zona inhibisi disekitar lubang sumuran.

Penelitian ini menggunakan empat *Petri Dish* yang masing-masing berisi 10ml *Nutrient Agar* yang telah dicampur dengan spesimen *Escherichia coli*. Pada masing-masing *Petri dish* dibuat enam lubang dengan diameter 5mm. Masing-masing lubang pada agar dalam satu *Petri dish* diisi oleh ekstrak dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Setelah itu, *Petri dish* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan secara kuantitatif untuk menentukan ada tidaknya hambatan pertumbuhan bakteri didapatkan dengan mengukur rata-rata diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran

dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan millimeter (mm).

Untuk melakukan uji *One-Way Anova* atau uji parametrik, terlebih dahulu data harus memenuhi dua persyaratan. Dua persyaratan itu adalah uji normalitas dan uji homogenitas. Uji *One-Way Anova* harus memiliki sifat data normal dan homogen. Uji normalitas dilakukan dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan dinyatakan distribusi data normal bila nilai signifikansi (*p-value*) adalah lebih dari 0,05. Uji Homogenitas dilakukan dengan uji *Levene* dan dinyatakan homogen bila *p-value* lebih dari 0,05. Pada uji normalitas data didapatkan hasil 0,128. Pada uji homogenitas didapatkan hasil 0,226 yang artinya kedua persyaratan uji *One-Way ANOVA* telah terpenuhi.

Dari uji *One-Way ANOVA* jika didapatkan nilai signifikansi  $< 0,05$

menunjukkan bahwa terdapat perbedaan perlakuan yang signifikan.<sup>9</sup> Hal tersebut juga menunjukkan bahwa perbedaan jumlah koloni dapat disebabkan oleh konsentrasi pada ekstrak perlakuan. Pada uji *Posthoc*, diketahui tiap konsentrasi memiliki perbedaan yang bermakna antara satu dengan yang lain kecuali antara konsentrasi 60% dengan 70%, 70% dengan 80%, dan 80% dengan 90%. Uji korelasi *pearson*, nilai korelasi antara konsentrasi perlakuan terhadap jumlah koefisien mempunyai korelasi sebesar 0,983 menunjukkan terdapat hubungan yang sangat kuat antar konsentrasi dengan jumlah koloni. Nilai positif menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Nilai  $P = 0,000$  yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara konsentrasi dengan jumlah koloni ( $P < 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antimikroba ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diuji secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Metode ini digunakan untuk melihat aktivitas antimikroba dengan cara mengukur zona inhibisi yang terbentuk akibat efek dari ekstrak etanol biji alpukat terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak biji alpukat dengan keberagaman 50%,60%,70%,80%,90%,100% serta 1 kelompok kontrol tanpa pemberian ekstrak (konsentrasi 0%). Besarnya konsentrasi penelitian definitif ditentukan dengan penelitian pendahuluan yang juga menggunakan metode difusi sumuran.

Ekstrak yang digunakan dalam eksperimen adalah ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.). Ekstraksi dilakukan di UPT *Materia Medika* yang terdapat di Kota Batu. Teknik ekstraksi yang

dilakukan adalah tehnik maserasi menggunakan pelarut etanol. Metode ekstraksi dipilih dibandingkan dengan metode lainnya karena diharapkan kandungan bahan aktif yang diinginkan tidak banyak berkurang. Sejumlah 300 gram bubuk biji buah alpukat didapatkan yang mana didapatkan sekitar 70 ml ekstrak biji alpukat. Beberapa literatur menyebutkan bahwa ekstrak biji alpukat memiliki beragam zat aktif yang dapat berpotensi sebagai antimikroba. Zat-zat aktif itu antara lain adalah steroid, alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid.

Berdasarkan hasil analisis data penelitian yang telah dijelaskan di Bab 5, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Bahkan, terdapat hubungan yang signifikan dan sangat bermakna antara besar konsentrasi ekstrak biji alpukat dengan besarnya diameter zona inhibisi yang terbentuk pada *Escherichia coli*. Dari analisis data statistik juga menunjukkan bahwa adanya perbedaan zona inhibisi yang signifikan antar konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah ketidakmampuan untuk menentukan kadar kadar hambat minimum (KHM) ataupun kadar bunuh minimum (KBM). Hal ini terjadi dikarenakan ekstrak biji alpukat yang berwarna keruh ketika akan digunakan untuk

metode dilusi tabung. Oleh karena itu tidak dapat dilihat jelas secara visual sehingga tidak dapat menentukan KHM maupun KBM dari metode dilusi tabung. Diharapkan pula penelitian berikutnya dapat mencari metode untuk menentukan KHM dan KBM ekstrak etanol biji alpukat. Penelitian ini juga memiliki keterbatasan yang lain, yaitu tidak diketahui secara pasti kadar bahan aktif yang ada dalam ekstrak etanol biji alpukat yang dihasilkan dari proses ekstraksi. Uji lanjutan mengenai farmakodinamik, farmakokinetik, toksisitas, efek samping masih diperlukan. Hal yang diperlukan juga ialah mencari metode ekstraksi yang lebih efisien dan efektif agar potensi dari ekstrak biji alpukat dapat dimanfaatkan secara maksimal. Ditambah lagi kedepannya masih diperlukan penelitian yang lebih mendalam terhadap ekstrak biji alpukat agar dapat bermanfaat secara klinis pada masyarakat.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Ekstrak biji alpukat (*Persea Americana* Mill.) memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang dibuktikan dengan metode difusi sumuran secara *in vitro*.
2. Hubungan antara berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat (*Persea Americana* Mill.) dengan pertumbuhan *E.coli* adalah

semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat maka semakin besar diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

## SARAN

Saran-saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah dilakukannya penelitian yang mendalam tentang :

1. Mencari metode ekstraksi atau metode penelitian lain yang dapat menentukan KHM dan KBM dari ekstrak biji alpukat.
2. Diperlukan uji toksisitas dan efek samping ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.) pada hewan coba agar kedepannya dapat diterapkan sebagai antibakteri pada manusia.
3. Eksplorasi mengenai kandungan zat aktif dan kadar zat aktif yang memiliki potensi antimikroba pada ekstrak biji alpukat
4. Eksplorasi mengenai lama penyimpanan terhadap aktivitas antimikroba ekstrak etanol biji alpukat.
5. Eksplorasi mengenai metode ekstraksi yang tepat agar potensi dari ekstrak biji alpukat dapat dimanfaatkan secara maksimal sebagai antimikroba.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Brooks G. F., Jawetz E., Melnick J.L., and Adelberg E. A., (2013). *Medical Microbiology*, 26th Ed., New York, p 231-235.
2. Adisasmito W, (2007). Faktor Risiko Diare Pada Bayi Dan Balita Di Indonesia. *Makara Kesehatan*, 11(1), 1-10.
3. Baron, E.J., Peterson, L.R. and Finegold S.M. (1994). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 9th edition., Mosby-Year Book, Missouri.
4. Dulay R.M., Castro M.E. (2016). *Persea americana* Mill. (Lauraceae) Extract Exhibits Antioxidant and Antibacterial Properties. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 8(20), 191-196.
5. Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564–582. <http://cmr.asm.org>. Di akses tanggal 16 Desember 2015.
6. Cushnie, T.P.T., Cushnie, B. & Lamb, A.J. 2014. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5): 377–386.
7. Epand R.F., Savage P.B., Epand R.M. (2007). Bacterial Lipid Composition And the Antimicrobial Efficacy Of Cationic Steroid Compounds. (Abstract). *Biochimica et Biophysica Acta*, 42 (2), 2500-2509.

8. Idris S., Ndukwe., Gimba C.E. (2009). Preliminary Phytochemical Screening And Antimicrobial Activity Of Seed Extracts Of Persea Americana (Avocado Pear). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2(1), 173- 176.
9. Dahlan Sopiudin, M. 2011. *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat*, Edisi 5., Salemba Medika, Jakarta
10. Jay J., Balangcod T.D., Patacsil M.C. (2012). Suppression of Growth Of Some Medically Important Bacterial Pathogens ( *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella thyphimurium* ) with Plant Extracts Of Selected indigenous Semi- Temperature Medicinal Plants in the Philippines. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 6(1), 1-12
- A. 2011. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Putih (Allium Sativum L.) Terhadap Pertumbuhan Pan Drugs Resistant Acinetobacter Baumannii*. Tugas Akhir. Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.



Menyetujui,  
Pembimbing I

dr. Dewi Erikawati, M.Si

NIP. 1950 1110 1980021 001

