

UJI AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*Persea americana* Mill.) DENGAN DAUN JERUK PURUT (*Cytrus hystrix* DC.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhi* DAN *Staphylococcus aureus*

Military C. Tangkilisan^{1)*}, Julianri Sari Lebang¹⁾, Elly Juliana Suoth¹⁾, Ovie Syenni Datu¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado, 95115

*militarychristytangkilisan25@gmail.com.

ABSTRACT

Avocado (Persea americana Mill.) and kaffir lime (Citrus hystrix DC.) plants have potential as traditional medicines with antibacterial activity. This study aims to test the antibacterial effect of a combination of ethanol extracts of avocado and kaffir lime leaves against Salmonella typhi and Staphylococcus aureus, and determine the concentration that have the largest inhibition zone. Extraction was using maceration with 96% ethanol, and Well diffusion antibacterial testing method. Chloramphenicol antibiotic 0,82 µg/µl used as a positive control, DMSO 10% as negative control, and combination of extracts at each concentration (25%, 30%, and 35%) with a ratio of extracts (1:1). The results showed that the combination of extracts at concentrations of 25%, 30%, and 35% was effective against both bacteria, with inhibition zone diameters for Salmonella typhi of 12,06 mm, 12,9 mm, and 13,81 mm (strong category), respectively, and for Staphylococcus aureus of 9,46 mm, 10,41 mm (medium category), and 11 mm (strong category). This study demonstrated that the higher the extract concentration, the greater inhibition zone diameter of the bacterial growth.

Keywords: Antibacterial, Avocado, kaffir lime, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, Well Diffusion

ABSTRAK

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki potensi sebagai obat tradisional dengan aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan jeruk purut terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, serta menentukan konsentrasi yang menghasilkan zona hambat terbesar. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%, dan uji antibakteri dengan metode difusi sumuran. Antibiotik kloramfenikol 0,82 µg/µl digunakan sebagai kontrol positif, DMSO 10% sebagai kontrol negatif, dan kombinasi ekstrak pada konsentrasi masing-masing (25%, 30%, dan 35%) dengan perbandingan ekstrak 1:1. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak pada konsentrasi 25%, 30%, dan 35% efektif terhadap kedua bakteri, dengan diameter zona hambat terhadap *Salmonella typhi* masing-masing 12,06 mm, 12,9 mm, dan 13,81 mm (kategori kuat), serta untuk *Staphylococcus aureus* sebesar 9,46 mm, 10,41 mm (kategori sedang), dan 11 mm (kategori kuat). Pada penelitian ini, peningkatan konsentrasi ekstrak menunjukkan semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri

Kata kunci: Antibakteri, Alpukat, Jeruk Purut, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, Difusi Sumuran

Pendahuluan

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, dan jamur merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di berbagai negara, termasuk Indonesia. Infeksi ini menyerang berbagai sistem organ, menyebabkan disfungsi jaringan dan memicu respons inflamasi yang dapat berakibat fatal (Lindawati *et al.*, 2019). Dua bakteri patogen yang umum menyebabkan infeksi pada manusia adalah *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Salmonella typhi* merupakan agen penyebab demam tifoid yang banyak menyerang saluran. Sementara *Staphylococcus aureus* sering dikaitkan dengan infeksi saluran pernapasan seperti pneumonia dan sepsis (Umarudin *et al.*, 2020).

Berdasarkan data WHO (2018), demam tifoid menyebabkan 11-20 juta kasus dan 128.000-150.000 kematian global tiap tahun, sementara di Indonesia tercatat 600.000-1,3 juta kasus dan 200.000 kematian per tahun. Kasus demam tifoid masih ditemukan di berbagai daerah dengan prevalensi nasional 4,0% pada 2018, terutama pada usia 5-14 tahun. Selain itu, dilaporkan juga insiden pneumonia akibat *Staphylococcus aureus* juga meningkat di Indonesia, dengan prediksi kematian mencapai 10 juta jiwa pada 2050 tanpa penanganan efektif (Kemenkes RI, 2018). Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) merupakan dua tanaman yang menunjukkan aktivitas antibakteri signifikan terhadap berbagai bakteri patogen, termasuk *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (Nasri *et al.*, 2022; Sreepian *et al.*, 2019).

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat 8,50 mm pada konsentrasi 20%, dikategorikan sebagai aktivitas antibakteri sedang (Azzahra *et al.*, 2019). Demikian pula, ekstrak daun jeruk purut menunjukkan efek antibakteri yang serupa terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif (Maimunah *et al.*, 2020). Berdasarkan potensi tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan daun jeruk purut sebagai agen antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, sebagai upaya pengembangan alternatif terapi infeksi bakteri yang lebih aman dan efektif.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November – Desember 2024 di Laboratorium Farmasi Lanjutan, Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Sam Ratulangi Manado dan Laboratorium Forensik POLDA Sulawesi Utara.

Alat dan Bahan

Timbangan analitik, oven, *blender*, *rotary evaporator*, *laminar air flow*, inkubator, *magnetic stirrer*, autoklaf, *drying oven*, alat-alat gelas, ayakan mesh 65, pencadang, jarum ose, *yellow tip*, cawan petri, corong buchner, bunsen dan jangka sorong, daun alpukat (*Persea americana* Mill.), daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), biakan bakteri uji (*Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*), kapsul kloramfenikol 250 mg, dimetil sulfoksida (DMSO) 10%, etanol 96%, *aquadest*, *Nutrient Agar* (NA), natrium klorida (NaCl) 0,9%, serbuk magnesium, besi (III) klorida (FeCl_3) 1%, asam klorida (HCl), asam sulfat pekat (H_2SO_4), asetil anhidrat ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$), kloroform (CHCl_3), amonia (NH_3), reagen mayer, wäger, dragendorff, dan larutan standar *Mc. Farland* 0,5.

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) diambil dan dilakukan penyortiran. Kemudian, dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara dipanaskan menggunakan oven pada suhu 45°C. Sampel yang sudah kering kemudian diblender lalu diayak dengan ayakan mesh 65 hingga diperoleh serbuk yang halus dan homogen, kemudian ditimbang beratnya (Azzahra *et al.*, 2019).

Pembuatan Ekstrak Daun Alpukat

Sebanyak 500 g serbuk simplisia dimaserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan bobot sampel dibanding pelarut adalah 1:5 selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk hingga homogen dan didiamkan. Hasil ekstraksi disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. residu diremaserasi dua kali dengan 2000 ml etanol 96% selama 1 hari setiap kali. Filtrat hasil dari maserasi dan remaserasi digabung dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 24 jam untuk menghilangkan pelarut dan kadar air (Azzahra *et al.*, 2019).

Skrining Fitokimia

Ekstrak kental daun alpukat dan daun jeruk purut masing-masing ditimbang sebanyak 2 g kemudian dilarutkan dalam 20 mL DMSO 10% di dalam gelas kimia. 2 mL masing-masing ekstrak digunakan dalam uji skrining fitokimia. Uji flavonoid dilakukan dengan ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 sendok serbuk Mg lalu ditambahkan HCl pekat 3 tetes. Warna merah, jingga atau merah keunguan menunjukan positif flavonoid. Uji alkaloid dilakukan dengan ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL kloroform, 5 mL amonia, dan 5 tetes H₂SO₄. Campuran dikocok hingga homogen dan diamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan paling atas (supernatan) dipipet dan dibagi ke dalam tiga tabung reaksi. Setiap tabung ditetaskan 10 tetes pereaksi Mayer, Wager, dan Dragendorff. Alkaloid positif apabila terbentuk endapan putih kekuningan pada pereaksi Mayer, endapan cokelat pada pereaksi Wager, endapan kuning merah atau jingga pada pereaksi Dragendorff. Uji saponin dilakukan dengan ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL *aquadest* dan dididihkan selama 10 menit. Didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm. Uji tanin/polifenol dilakukan dengan ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1% dan diamati warna yang terbentuk. Positif polifenol apabila larutan berubah warna menjadi biru kehitaman dan positif tanin jika berubah warna menjadi hijau kehitaman. Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan ekstrak dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL kloroform, 10 tetes asetil anhidrat (C₄H₆O₃) dan 3 – 5 tetes asam sulfat pekat (H₂SO₄). Steroid positif apabila terbentuk warna hijau-biru dan terpenoid positif apabila terbentuk warna merah keunguan (Azzahra *et al.*, 2019).

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan sekitar 1 atm selama 15 menit.

Pembuatan Larutan Kontrol

Kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Kontrol positif dibuat dengan Kloramfenikol 250 mg. 20 kapsul Kloramfenikol dibuka, lalu ditimbang dan disetarakan dengan 250 mg. Kemudian, mengambil 10 mg dan dilarutkan dalam 10 mL DMSO 10% untuk memperoleh larutan stok 10 mL dengan konsentrasi 0,82 µg/µl .

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dalam tiga konsentrasi, yaitu 25%, 30%, dan 35%. Untuk larutan 25%, masing-masing 2,5 g ekstrak daun alpukat dan daun jeruk purut dilarutkan dalam 10 mL DMSO 10% dan diaduk hingga homogen, kemudian kedua larutan digabungkan menjadi total volume 20 mL. Prosedur serupa dilakukan untuk larutan 30% dengan 3 g ekstrak dan larutan 35% dengan 3,5 g ekstrak, masing-masing menghasilkan larutan kombinasi homogen dengan volume total 20 mL.

Pembuatan Media

Media agar miring dibuat dengan *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 0,23 g dilarutkan dalam 10 mL *aquadest*, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, 5 mL media dituangkan ke dalam tabung reaksi steril dan didiamkan pada suhu ruang selama ±30 menit hingga memadat dengan kemiringan 30°. Media agar miring digunakan untuk peremajaan bakteri. Media dasar dan media pembenihan dibuat dengan *Nutrient Agar* (NA) seberat 2,76 g dilarutkan dalam 120 ml *aquadest* untuk media dasar, sedangkan 4,14 g NA dilarutkan dalam

180 ml *aquadest* untuk media pembenihan. Kedua larutan dihomogenkan dengan *hot plate* hingga mendidih, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan hingga $\pm 45^{\circ}\text{C}$. Media dasar dan media pembenihan ini selanjutnya digunakan sebagai lapisan dasar dan lapisan kedua dalam pembuatan media pengujian (Alouw *et al.*, 2022).

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dengan metode gores. Biakan murni bakteri diambil satu ose kemudian diinokulasi dengan digoreskan *zig-zag* pada media miring *Nutrient Agar* (NA) secara aseptik dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi dengan kawat steril diambil kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 ml larutan NaCl 0,9% hingga di peroleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan 10 mL *Mc. Farland* 0,5 (Alouw *et al.*, 2022).

Pembuatan Media Pengujian

Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan 20 ml media NA ke dalam 6 cawan petri dan dibiarkan memadat. Setelah itu, 7 pencadang baja berdiameter ± 7 mm diletakkan di permukaan lapisan dasar. Suspensi bakteri dicampur ke dalam media pembenihan NA. 30 ml campuran tersebut dituangkan ke setiap cawan sebagai lapisan kedua. Pencadang diangkat secara aseptik membentuk sumuran (Alouw *et al.*, 2022).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pada lubang sumuran ditetesi kontrol positif Kloramfenikol, kontrol negatif DMSO 10%, ekstrak yang tidak dikombinasi pada konsentrasi 25%, 30%, 35% dan kelompok perlakuan kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dengan daun jeruk purut dalam beberapa konsentrasi (25%, 30%, dan 35%) masing-masing sebanyak 50 μl . Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Diameter zona hambat diukur dengan mistar berskala dari tepi (*breakpoint*) melewati pusat lubang sumuran (Alouw *et al.*, 2022).

Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas kombinasi ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan daun jeruk purut (*Cytrus hystrix* DC.) sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dikategorikan lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat berdasarkan klasifikasi daya hambat Davis and Stout (1971) menggunakan parameter nilai zona hambat.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Sampel daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan *blender* sampai menghasilkan serbuk simplisia sebanyak 500 g, proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dan pelarut etanol 96%. Pelarut etanol lebih aman digunakan karena bersifat netral dibandingkan dengan pelarut yang lainnya. Menurut Haryani *et al.*, (2021), etanol 96% memiliki kemampuan menyari dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar, sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi dan menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi senyawa aktif yang baik. Hasil ekstraksi yang diperoleh adalah ekstrak kental dengan berat masing-masing simplisia 50,15 g untuk daun alpukat dan 58,7 g untuk daun jeruk purut. Jumlah rendemen yang didapat yaitu sebesar 10,03% dan 11,74%.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak etanol daun alpukat dan daun jeruk purut yang dilakukan meliputi, uji kandungan alkaloid, flavonoid, tanin/polifenol, saponin, steroid dan terpenoid dengan melihat reaksi uji warna menggunakan pereaksi warna. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun alpukat dan jeruk purut dapat dilihat pada tabel 1. Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid adalah senyawa OH yang terdapat dalam flavonoid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut.

Mekanisme kerja alkaloid meliputi peningkatan permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler penting bagi bakteri. Selain itu, alkaloid menghambat aktivitas enzim dan jalur biosintesis yang esensial untuk pertumbuhan dan reproduksi bakteri. Beberapa alkaloid juga dapat berikatan langsung dengan DNA, mengganggu replikasi dan transkripsi genetik. Mekanisme kerja dari senyawa tanin adalah dengan menghambat adhesi sel bakteri, menginaktivasi enzim, serta mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel, sehingga merusak polipeptida dinding sel dan menyebabkan lisis bakteri. Senyawa saponin memiliki aktivitas antibakteri melalui komponen aktif aglikon yang menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, membentuk kompleks dengan sterol, dan menyebabkan ketidakstabilan membran sel serta penghambatan aktivitas enzim bakteri (Purwanto & Iramie, 2022).

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

No	Pengujian	Daun Alpukat (<i>Persea americana</i> Mill.)		Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	
		Hasil	Keterangan	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid				
	a. Pereaksi Mayer	Tidak ada endapan	-	Tidak ada endapan	-
	b. Pereaksi Wegner	Tidak ada endapan	-	Tidak ada endapan	-
	c. Pereaksi Dragendorff	Endapan Jingga	+	Tidak ada endapan	+
2	Flavonoid	Jingga	+	Merah Tua	+
3	Saponin	Ada Busa	+	Ada Busa	+
4	Tanin/Polifenol	Hijau-Hitam	+	Hijau-Hitam	+
5	Steroid dan Terpenoid	Tidak ada perubahan	-	Tidak ada Perubahan	-

Keterangan:

(+) : mengandung metabolit sekunder

(-) : tidak mengandung metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 1, hasil skrining fitokimia pada ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill.) menunjukkan daun alpukat mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Sementara itu, daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) juga memiliki kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang berperan sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan Azzahra *et al.*, (2019) dan Astriani *et al.*, (2021) juga melaporkan hal yang sama bahwa ekstrak daun alpukat dan daun jeruk purut memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Senyawa fitokimia ini bekerja secara bersama sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dari kombinasi ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan terhadap bakteri *S.typi* dan *S.aureus* menggunakan metode difusi agar dengan cara sumuran. Metode difusi sumuran adalah metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba berdasarkan potensi difusi atau kemampuan senyawa untuk menyebar secara radial dan menghambat pertumbuhan mikroba pada media agar yang telah diinokulasi mikroba uji (Balouiri *et al.*, 2016). Parameter dalam uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran adalah terbentuknya area jernih atau zona bening disekitar lubang sumuran. Terbentuknya zona bening menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada media agar (Purnomo & Azzahra, 2021).

Media *Nutrient Agar* (NA) yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan dasar dan lapisan pembenihan. Lapisan media pembenihan diinokulasikan dengan suspensi bakteri uji, yang sudah setara kekeruhannya dengan larutan standar *Mc. Farland* 0,5. untuk memperkirakan kepadatan sel bakteri (Alouw *et al.*, 2022). Kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, dengan cara menghambat enzim peptidil transferase, sehingga

mengganggu sintesis protein dan pertumbuhan bakteri (Pelu & Djarami, 2022). Sedangkan kontrol negatif menggunakan DMSO 10% untuk memastikan bahwa pelarut tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri, sehingga aktivitas yang diamati berasal dari sampel uji.

Kelompok perlakuan pada uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dengan daun jeruk purut dilakukan pada konsentrasi 25%, 30% dan 35%. Konsentrasi tersebut meningkatkan senyawa antibakteri sehingga memperbesar zona hambat bakteri. Karena aktivitas antibakteri cenderung meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi ekstrak, maka dipilih konsentrasi yang lebih tinggi dari 20% untuk memperoleh efek yang lebih optimal. Pengujian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan daun jeruk purut terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Kombinasi Ekstrak terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*

Sampel	Konsentrasi	Hasil (mm)			Rata-rata	Kategori Daya Hambat
		U1	U2	U3		
Salmonella typhi						
Ekstrak Etanol Daun Alpukat	25%	8,55	-	-	8,55	Sedang
	30%	8,75	-	-	8,75	Sedang
	35%	10,2	-	-	10,2	Sedang
Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut	25%	5,65	-	-	5,65	Lemah
	30%	6,7	-	-	6,7	Sedang
	35%	8,0	-	-	8,0	Sedang
Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat : Daun Jeruk Purut	25%	9,2	7,85	19,15	12,06	Kuat
	30%	11,1	8,0	19,8	12,96	Kuat
	35%	11,45	10	20	13,81	Kuat
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0	19,35	19,5	18,6	19,15	Kuat
Kontrol Negatif (DMSO 10%)	0	0	0	0	0	Tidak Ada
Staphylococcus aureus						
Ekstrak Etanol Daun Alpukat	25%	7,8	-	-	7,8	Sedang
	30%	8,5	-	-	8,5	Sedang
	35%	11,9	-	-	11,9	Kuat
Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut	25%	6,0	-	-	6,0	Sedang
	30%	6,8	-	-	6,8	Sedang
	35%	10,45	-	-	10,45	Sedang
Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat : Daun Jeruk Purut	25%	9,0	9,5	9,9	9,46	Sedang
	30%	10,2	10,8	10,25	10,41	Sedang
	35%	11,1	11,2	10,7	11	Kuat
Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0	19,4	15,6	16,25	17,08	Kuat
Kontrol Negatif (DMSO 10%)	0	0	0	0	0	Tidak Ada

Keterangan :

(U) = Ulangan

(-) = Tidak dilakukan

Zona bening yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Zona Bening Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak terhadap Bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* (a) ulangan pertama, (b) ulangan kedua, dan (c) ulangan ketiga.

Menurut Davis *and* Stout (1971), kekuatan daya antibakteri dapat digolongkan berdasarkan klasifikasi zona hambat, yaitu daya hambat lemah, sedang, kuat dan sangat kuat yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kategori Daya Hambat Aktivitas Antibakteri Davis *and* Stout (1971)

Zona Hambat (mm)	Daya Hambat
≤ 5	Lemah
6 - 10	Sedang
11 -20	Kuat
> 20	Sangat Kuat

Hasil pengukuran zona hambat pada Tabel 2 dan 3 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun jeruk purut meningkatkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 30%, dan 35% dibandingkan ekstrak tunggal. Peningkatan ini disebabkan oleh efek sinergis senyawa bioaktif dalam kedua ekstrak, yang bekerja sama untuk memperkuat penghambatan bakteri secara signifikan (Niswah *et al.*, 2023). Berdasarkan kategori Davis *and* Stout (1971), kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan daun jeruk purut pada konsentrasi 25%, 30%, dan 35% menunjukkan daya hambat kuat terhadap *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat masing-masing 12,06 mm, 12,96 mm, dan 13,81 mm. Untuk *Staphylococcus aureus*, konsentrasi 25% dan 30% termasuk kategori sedang, sedangkan konsentrasi 35% menunjukkan daya hambat kuat dengan diameter zona hambat 11 mm. Antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas antibakteri kuat dengan diameter zona hambat rata-rata 19,15 mm terhadap *Salmonella typhi* dan 17,08 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil ini sejalan dengan penelitian Nasution *et al.* (2019) dan Pelu & Djarami (2022) yang melaporkan kloramfenikol efektif menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat 21,75 mm dan 35 mm pada kedua bakteri tersebut.

Kombinasi ekstrak etanol daun alpukat alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih efektif terhadap bakteri Gram-negatif *Salmonella typhi* dibandingkan Gram-positif *Staphylococcus aureus*. Hal ini disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel; bakteri Gram-negatif memiliki membran luar yang tipis dan permeabel dengan porin protein, sehingga senyawa aktif ekstrak lebih mudah menembus dan mengganggu membran sel. Senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak etanol lebih mudah menembus membran sel yang semakin permeabel, sehingga menyerap lebih banyak senyawa dan menghasilkan efek toksik pada bakteri (Lindawati *et al.*, 2019). Sebaliknya, bakteri Gram-positif memiliki dinding sel yang tebal tersusun dari peptidoglikan dan asam teikoat, yang menghambat penetrasi senyawa antibakteri (Murray *et al.*, 2016). Efek antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* paling efektif pada konsentrasi 35%, dengan konsentrasi minimal penghambatan pada 25%. Hasil pengujian kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan daun jeruk purut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan besarnya zona hambat. Peningkatan konsentrasi ekstrak meningkatkan zona hambat karena lebih banyak senyawa aktif antibakteri yang merusak metabolisme bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan mereka (Niswah *et al.*, 2023).

Kesimpulan

Kombinasi ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Peningkatan konsentrasi ekstrak menunjukkan semakin besar diameter zona hambat karena lebih banyak senyawa aktif yang menghambat pertumbuhan bakteri.

Daftar Pustaka

Alouw, G., Fatimawali, F., & Lebang, J. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas*

- aeruginosa Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Farmasi Medica/ Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, **5(1)**: 36-44.
- Astriani, N. K., Chusniasih, D., & Marcellia, S. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, **8(3)**: 291-301.
- Azzahra, F., Almalik, E. A., & Sari, A. A. (2019). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, **4(2)**: 1-10.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **6(2)**: 71–79.
- Davis, W.W., & Stout, T.R. (1971). Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotic. Microbiology.
- Haryani, F., Hakim, A., & Hanifa, N. I. (2021). Perbandingan Pelarut Etanol 96% dan Aseton pada Ekstraksi dan Isolasi Kurkuminoid dari Rimpang Kunyit. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, **2(2)**: 112-117.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2018). Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Lindawati, A., Manik, R. W., Rebekah, J. S., Juniastuti, Deby, K., & Pepy, D. E. (2019). Buku Ajar Pemeriksaan Mikrobiologi Pada Penyakit Infeksi. Jakarta: Sagung Seto. ISBN: 978-602-271-151-3
- Maimunah, S., Rayhana, R., & Silalahi, Y. C. E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus (Jpbn)*, **6(2)**: 129-138.
- Murray, P. R., K. S. Rosenthal., M. A. Pfaller. (2016). Medical Microbiology 8th Edition. Elsevier, Missouri.
- Nasri, N., Kaban, V. E., Syahputra, H. D., & Satria, D. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Herbal Medicine Journal*, **5(1)**: 13-19.
- Nasution, F. M., Chalil, M. J. A., & Lubis, M. (2019). Efektifitas Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) Dengan Kloramfenikol Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* Secara in Vitro. *Jurnal Ilmiah Simantek*, **3(3)**: 1-5.
- Niswah, S. U., Indrayati, A., & Sari, G. N. F. (2023). Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* Dc) Dan Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **27(3)**: 110-118.
- Pelu, A. D., & Djarami, J. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Harendong Bulu (*Clidemia Hirta*) asal Maluku terhadap *Staphylococcus Aureus*. *JUMANTIK (Jurnal Ilmiah Penelitian Kesehatan)*, **7(4)**: 351-35.
- Purnomo, H. Y., & Azzahra, F. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, 7-14.
- Purwanto, & Iramie, D. K. I. (2022). Senyawa Alam sebagai Antibakteri dan Mekanisme Aksinya. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. ISBN: 978-623-359-050-1.
- Sreepian, A., Sreepian, P. M., Chanthong, C., Mingkhwancheep, T., & Prathit, P. (2019). Antibacterial activity of essential oil extracted from *Citrus hystrix* (Kaffir Lime) peels: An in vitro study. *Tropical Biomedicine*, **36(2)**: 531-541.
- Umarudin, I, G. A. A., Rohayati, Nangsih, S. S., Febri, S., Yasinta, R., Ni, K. Y. S., Ayu, B. S., Iis, K., Yuliawati, Anak, A. A. P. P., Fusvita, M., & Asep, D. (2020). Bakteriologi 2. Bandung: CV. Media Sains Indonesia. ISBN: 978-623-195-690-3.
- World Health Organization. (2018). Typhoid fever: Key facts. Geneva: WHO.
-