Damianus *Journal of Medicine*
Vol.24 No.2 Agustus 2025: hal.119-125

ARTIKEL PENELITIAN

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERIAL EKSTRAK PANAS DAN EKSTRAK DINGIN BIJI ALPUKAT TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus*

COMPARISON OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HOT AND COLD EXTRACTS OF AVOCADO SEEDS AGAINST Staphylococcus aureus AND *METHICILLIN-RESISTANT Staphylococcus aureus*

Antonius Yudhistira Adhitama[1], **Jojor Lamsihar Manalu**[2,*], **Rita Dewi**[4], **Andrew Adhytia Lieputra**[3], **Yulia Tanti Narwati**[3]

[1] Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440
[2] Departemen Fisiologi dan Fisika, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440
[3] Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440
[4] Departemen Kimia Biokimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440
*** Korespondensi:** jojor.lamsihar@atmajaya.ac.id

ABSTRACT
Introduction: *Infectious diseases caused by pathogenic microorganisms, including Staphylococcus aureus and Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), are global health issues with high mortality rates. Avocado seeds* (*Persea americana* Mill.) *contain compounds with antibacterial potential, such as flavonoids and tannins. This study aims to compare the antibacterial activity of avocado seed extracts obtained through cold extraction (maceration) and hot extraction (reflux) against S. aureus and MRSA.*
Methods: *This research is an in vitro experimental study. The extraction of avocado seed simplicia was carried out using maceration (cold) and reflux (hot) methods. Qualitative phytochemical screening was performed to detect the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. Quantitative analysis of flavonoid content was conducted using the UV-Vis spectrophotometric method. Antibacterial activity was assessed using the well diffusion method. Statistical analysis was performed using non-parametric tests.*
Results: *The cold extract had a flavonoid content of 3.932 mgQE/g (mean), while the hot extract had a flavonoid content of 2.288 mgQE/g (mean). Both cold and hot extracts of avocado seed exhibited antibacterial activity compared to the negative control at a concentration of 25% ($p<0.05$). Antibacterial activity testing using the well diffusion method revealed that cold and hot extracts had no significant difference in effectiveness against the two types of bacteria at various concentrations ($p>0.05$). These findings indicate that both extraction methods can produce extracts with equivalent antibacterial activity.*
Conclusion: *Avocado seed extracts, obtained through both cold extraction (maceration) and hot extraction (reflux), exhibit antibacterial activity against Staphylococcus aureus and MRSA. There was no significant difference between the two extraction methods in inhibiting the growth of these bacteria.*
Key Words: *avocado seed extract, MRSA, Persea americana* Mill*., Staphylococcus aureus, well diffusion*

ABSTRAK
Pendahuluan: Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, termasuk *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), menjadi masalah kesehatan global dengan angka kematian tinggi. Biji alpukat (*Persea americana Mill*.) mengandung senyawa dengan potensi antibakterial, seperti flavonoid dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakterial ekstrak biji alpukat yang diperoleh melalui teknik ekstraksi dingin (remaserasi) dan panas (refluks) terhadap *Staphylococcus aureus* dan MRSA.
Metode: Penelitian adalah penelitian eksperimental in vitro. Ekstraksi simplisia biji alpukat dilakukan dengan metode remaserasi (dingin) dan refluks (panas). Dilanjutkan dengan uji fitokimia kualitatif metode penampisan terhadap flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Uji kuantitatif dengan metode UV-Vis terhadap senyawa

Flavonoid. Uji aktivitas antibakterial dilakukan dengan uji difusi sumuran. Analisis statistik menggunakan uji non parametrik.
Hasil: Ekstrak biji alpukat memiliki metabolit sekunder flavonioid, alkaloid, saponin, dan Tanin. Ekstrak dingin memiliki jumlah flavonoid dengan rata-rata 3,932 mgQE/g. Ekstrak panas memiliki jumlah flavonoid dengan rata-rata 2,288 mgQE/g**.** Ekstrak dingin dan ekstrak panas biji alpukat memiliki aktivitas antibakterial jika dibandingkan dengan kontrol negatif pada konsentrasi 25% ($p<0,05$). Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran menunjukkan bahwa ekstrak dingin dan panas memiliki efektivitas yang tidak berbeda signifikan terhadap kedua jenis bakteri pada berbagai konsentrasi ($p>0,05$). Hasil ini mengindikasikan bahwa kedua metode ekstraksi dapat menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri yang setara.
Simpulan: Ekstrak biji alpukat, baik melalui metode ekstraksi dingin (remaserasi) maupun panas (refluks), memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan MRSA. Tidak terdapat perbedaan signifikan antara kedua metode ekstraksi dalam menghambat pertumbuhan kedua bakteri.
Kata Kunci: ekstrak biji alpukat, difusi sumuran, MRSA, *Persea americana Mill, Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) dan *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), merupakan salah satu tantangan utama dalam kesehatan global. Infeksi ini tidak hanya menyebabkan morbiditas yang signifikan tetapi juga kematian, terutama karena meningkatnya resistensi antibiotik yang membuat pengobatan lebih sulit dan mahal.[1,2] *S. aureus*, yang dalam kondisi normal adalah flora tubuh, dapat menyebabkan berbagai infeksi serius bila memasuki jaringan atau aliran darah.[3] Sementara itu, MRSA dengan resistensi terhadap beta-laktam menjadi ancaman besar, terutama dalam lingkungan rumah sakit, dengan komplikasi yang sering berujung pada mortalitas.[4]

Upaya untuk menemukan alternatif terapi, terutama dari bahan alami, menjadi perhatian utama. Buah alpukat *Persea americana* Mill. (*P. americana* Mill.), yang populer di masyarakat Indonesia, memiliki potensi terapeutik tidak hanya dari daging buahnya tetapi juga bijinya. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa biji alpukat mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin, yang memiliki aktivitas antibakterial.[5] Ekstrak biji alpukat terbukti efektif terhadap beberapa bakteri Gram-positif, termasuk *S. aureus*.[6] Namun, studi yang membandingkan efektivitas metode ekstraksi panas (reflux) dan dingin (remaserasi) terhadap aktivitas antibakterial ekstrak biji alpukat masih terbatas.

Teknik ekstraksi remaserasi dan refluks masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan. Remaserasi, sebagai metode ekstraksi dingin, dianggap lebih aman untuk senyawa aktif yang labil terhadap panas, meskipun membutuhkan waktu yang lebih lama. Sebaliknya, metode reflux, yang menggunakan panas, lebih efisien dalam waktu dan penggunaan pelarut tetapi dapat menurunkan stabilitas senyawa tertentu.[7-9] Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakterial ekstrak biji alpukat terhadap *S. aureus* dan MRSA yang dihasilkan dari kedua teknik ekstraksi tersebut, dengan harapan dapat memberikan wawasan tentang metode optimal untuk menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakterial terbaik.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental in vitro untuk menguji aktivitas

antibakterial ekstrak biji alpukat (*P. americana* Mill.) yang diekstraksi dengan metode remaserasi (teknik dingin) dan reflux (teknik panas).[7,8] Simplisia biji alpukat kering diekstraksi menggunakan etanol 96%, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental.[10] Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.[11,12] Aktivitas antibakterial diuji dengan metode difusi sumuran pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) terhadap *S. aureus* (ATCC 25923) dan MRSA (ATCC 43300) menggunakan larutan uji dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif. Diameter zona hambat diukur setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, dan data dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok.[13,14]

HASIL

Hasil ekstraksi biji alpukat (*P. americana* Mill.) menunjukkan bahwa metode remaserasi (ekstraksi dingin) menghasilkan ekstrak sebanyak 15,36 gram dengan rendemen sebesar 6,11%, sedangkan metode reflux (ekstraksi panas) menghasilkan ekstrak sebanyak 6,33 gram dengan rendemen lebih tinggi, yaitu 12,6%. Ekstrak dari kedua metode berbentuk pasta kental berwarna cokelat.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Biji Alpukat

Jenis Simplisia	Jenis Ekstrak	
	Ekstrak Dingin (%)	Ekstrak Panas (%)
Biji *Persea americana Mill.*	6,11	12,6

Hasil uji fitokimia kualitatif terhadap ekstrak biji alpukat (*P. americana* Mill.) menunjukkan bahwa baik metode ekstraksi dingin (remaserasi) maupun panas (refluks) menghasilkan kandungan senyawa aktif yang serupa, yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Keempat senyawa ini terdeteksi positif pada kedua jenis ekstrak. Uji fitokimia kuantitatif lebih lanjut dilakukan untuk mengukur konsentrasi flavonoid dalam ekstrak biji alpukat. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dingin memiliki konsentrasi flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak panas, dengan nilai rata-rata sebesar 3,932 mgQE/g pada ekstrak dingin dibandingkan 2,288 mgQE/g pada ekstrak panas.

Hasil analisa komparasi dalam kelompok diameter zona hambat ekstrak panas dan ekstrak dingin biji alpukat terhadap bakteri *S. aureus* berdasarkan uji Kruskal-Wallis. Pada ekstrak panas perbandingan antara kontrol negatif dengan larutan uji konsentrasi 25% dan 20 % menunjukkan adanya perbebedaan yang bermakna (p=0,003 dan p=0.018). Perbandingan dengan kontrol positif ditemukan perbedaan bermakna pada larutan uji konsentrasi 10% dan 5% (p=0,018 dan p=0,003). Pada ekstrak dingin ditemukan perbedaan bermakna pada larutan uji pada konsentrasi 25% dan 20% dibandingkan kontrol negatif

(p=0,005 dan p=0,029). Hasil perbandingan larutan uji terhadap kontrol positif memiliki perbedaan bermakna pada konsentrasi 5% dan 10% (p=0,001 dan p=0,017).

Hasil analisa komparasi dalam kelompok diameter zona hambat ekstrak panas dan ekstrak dingin biji alpukat terhadap bakteri MRSA berdasarkan uji Kruskal-Wallis. Pada ekstrak panas terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dan larutan uji konsentrasi 25% (p=0,005). Terdapat perbedaan bermakna antara kontrol positif dan larutan uji konsentrasi 10% dan 5 % (p=0,031 dan p=0,003). Pada ekstrak dingin terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dan larutan uji konsentrasi 25% dan 20% (p=0,003 dan p=0,018). Perbandingan dengan kontrol positif terdapat perbedaan bermakna dengan larutan uji konsentrasi 10% dan 5% (p=0,025 dan p=0,003).

Hasil uji normalitas data menunjukkan data tidak terdistribusi normal, sehingga data dianalisis menggunakan uji Mann-Whitney. Hasil analisis komparasi antara ekstrak dingin dan ekstrak panas biji alpukat (*P. americana* Mill.) terhadap bakteri *S. aureus* (Tabel 2) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan dalam diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kedua jenis ekstrak (p≥0,05). Hasil yang sama juga ditemukan pada pengujian terhadap MRSA (Tabel 3), tidak terdapat perbedaan signifikan dalam diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak dingin dan ekstrak panas (p≥0,05).

Tabel 2. Komparasi Ekstrak Dingin dan Ekstrak Panas Biji Alpukat terhadap Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi	Rata-rata Zona Hambat (mm)		Sig. (*p-Value*)
	Ekstrak Dingin	Ekstrak Panas	
25%	14,33	14,62	0.050
20%	13,62	13,32	0.127
15%	12,92	11,32	0.050
10%	11,88	10,77	0.050

Tabel 3. Komparasi Ekstrak Dingin dan Ekstrak Panas Biji Alpukat terhadap Bakteri MRSA

Konsentrasi	Rata-rata Zona Hambat (mm)		Sig. (*p-Value*)
	Ekstrak Dingin	Ekstrak Panas	
25%	14,35	13,90	0.050
20%	13,95	12,18	0.050
15%	13,47	11,80	0.050
10%	12,95	11,50	0.050

DISKUSI

Proses ekstraksi biji alpukat (*P. Americana* Mill.) dengan metode remaserasi (ekstraksi dingin) dan reflux (ekstraksi panas) menghasilkan ekstrak dengan karakteristik yang berbeda dalam hal rendemen. Ekstrak dingin memiliki rendemen lebih rendah (6,11%) dibandingkan ekstrak panas (12,6%), yang mencerminkan efisiensi ekstraksi yang lebih tinggi pada metode panas. Perbedaan ini disebabkan oleh kemampuan pelarut dengan pemanasan lebih efektif melarutkan senyawa

aktif. Namun, penggunaan panas berpotensi menyebabkan degradasi senyawa aktif tertentu, seperti flavonoid, yang dapat memengaruhi aktivitas antibakterial.[7,15]

Hasil uji fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak dingin dan panas biji alpukat mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin, yang diketahui memiliki potensi antibakterial. Kesamaan kandungan senyawa aktif pada kedua metode ekstraksi ini menunjukkan bahwa baik teknik remaserasi maupun reflux mampu mempertahankan kehadiran senyawa-senyawa penting. [16,17] Hal ini penting mengingat senyawa-senyawa tersebut, terutama flavonoid dan tanin, memiliki mekanisme kerja yang melibatkan gangguan pada membran bakteri dan penghambatan sintesis DNA.[18] Uji fitokimia kuantitatif menunjukkan bahwa konsentrasi flavonoid dalam ekstrak dingin lebih tinggi (rata-rata 3,932 ppm) dibandingkan ekstrak panas (rata-rata 2,288 ppm). Hasil ini mendukung hipotesis bahwa senyawa flavonoid lebih stabil dalam kondisi suhu rendah selama ekstraksi, karena proses panas berpotensi menyebabkan degradasi termal senyawa tersebut. Hal ini relevan dalam konteks aktivitas antibakterial, mengingat flavonoid merupakan salah satu senyawa utama yang berkontribusi pada efek antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis DNA dan membran bakteri.[19,20]

Pada pengujian terhadap *S. aureus*, tidak ditemukan perbedaan signifikan antara aktivitas antibakterial ekstrak dingin dan panas ($p \geq 0,05$), meskipun ekstrak dingin menghasilkan zona hambat yang sedikit lebih besar pada konsentrasi tertentu. Hasil ini menunjukkan bahwa kedua metode ekstraksi mampu menghasilkan ekstrak dengan efektivitas antibakterial yang serupa terhadap *S. aureus*. Pada pengujian terhadap MRSA, hasil serupa juga ditemukan, yaitu ekstrak dingin dan panas tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p \geq 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif pada kedua ekstrak cukup efektif untuk menghambat pertumbuhan MRSA.

Konsentrasi 25% dari ekstrak dingin dan panas menunjukkan aktivitas antibakterial yang konsisten terhadap *S. aureus* dan MRSA, dengan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan konsentrasi lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa pada konsentrasi ini, kandungan senyawa aktif seperti flavonoid dan tanin cukup tinggi untuk memberikan efek antibakterial maksimal. Pada konsentrasi 20%, ekstrak dingin masih mampu menunjukkan zona hambat yang signifikan, sedangkan ekstrak panas mengalami penurunan efektivitas, terutama terhadap *S. aureus*.

Efektivitas antibakterial yang lebih tinggi pada konsentrasi 25% dapat dijelaskan oleh konsentrasi senyawa aktif yang lebih besar, yang memungkinkan efek sinergis antara senyawa aktif untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Perbedaan efektivitas antara ekstrak dingin dan panas pada konsentrasi lebih rendah juga dapat dihubungkan dengan potensi degradasi senyawa aktif pada ekstrak panas selama proses ekstraksi, yang mengurangi jumlah senyawa aktif yang tersedia untuk memberikan efek antibakterial pada konsentrasi lebih rendah.

SIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak biji alpukat (*P. americana* Mill.) yang diperoleh melalui metode ekstraksi dingin (remaserasi) dan panas (reflux) memiliki aktivitas antibakterial terhadap *S. aureus* dan MRSA, dengan konsentrasi 25% menunjukkan zona hambat paling signifikan dibandingkan konsentrasi lainnya. Tidak ditemukan perbedaan signifikan antara aktivitas antibakterial ekstrak dingin dan panas terhadap kedua bakteri, meskipun ekstrak dingin memiliki konsentrasi flavonoid lebih tinggi yang dapat berkontribusi pada efektivitasnya. Hal ini menunjukkan bahwa kedua metode ekstraksi dapat digunakan untuk menghasilkan ekstrak dengan potensi antibakterial.

DAFTAR PUSTAKA

1. GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. Lancet. 2022; 400(10369):2221-48.
2. Vestergaard M, Frees D, Ingmer H. Antibiotic resistance and the MRSA problem. Microbiol Spectr. 2019 Mar;7(2):10.1128/microbiolspec.gpp3-0057-2018.
3. Tong SY, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015;28(3):603-61.
4. *Staphylococcus aureus* Infection - StatPearls - NCBI Bookshelf.
5. Thalib B, Nahar CL. Efektivitas antibakteri ekstrak biji alpukat (*Persea amecicana* Mill.) terhadap *Streptococcus mutans* (Antibacterial effective-ness of avocado seed (*Persea amecicana* Mill.) extract on *Streptococcus mutans*. Makasar Dent J. 2018; 7(1): 26-9.
6. Retnosari R, Sutrisno S, Handoyo K. Aktivitas antibakteri metabolit sekunder dari ekstrak metanol biji alpukat (*Persea amecicana* Mill.). J Cis-Trans. 2017;1(1):16-21.
7. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. Chin Med. 2018;17:13-20.
8. Mathews A, Arbal AV, Kaarunya A, Jha PK, Le-Bail A, Rawson A. Chapter Five - Conventional vs modern extraction techniques in the food industry. In: Jafari SM, Akhavan-Mahdavi S, editors. Extraction processes in the food industry. Woodhead Publishing; 2024 [cited 2024 May 20]. p. 97–146.
9. Pebrian RF, Marini M, Partiwi S. Pengaruh perbedaan metode maserasi dan remaserasi kulit pisang nangka (*Musa paradisiaca* L.) terhadap penapisan fitokimia. HERBAPHARMA J Herb Farmacol. 2021;3(2):89–95.
10. Abubakar AR, Haque M. Preparation of medicinal plants: basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. J Pharm Bioallied Sci. 2020;12(1):1–10.
11. Meilanda R, Puspitasari A, Kisdaryeti K. Uji aktivitas antibakteri ekstrak biji alpukat (*Persea americ*an Mill.) terhadap bakteri penyebab diare Escherichia coli dan Bacillus cereus. J Surya Med JSM. 2023;9(3):84–91.
12. Saragih DE, Arsita EV. Kandungan fitokimia Zanthoxylum acanthopodium dan potensinya sebagai tanaman obat di wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Masyarakat Inonesia, Maret 2019; 5(1): 71-6.
13. CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard, 12th ed. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015.
14. Zada AAS. Perbedaan hasil uji aktivitas antibakteri metode well diffusion dan Kirby Bauer terhadap pertumbuhan bakteri. J Med Hutama. 2021;2(4): 1156–61.
15. Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. Med Aroma Plants. 2015; 27;4(3):1-6.
16. Handayani F, Apriliana A, Ariyanti L. Perbandingan metode maserasi dan refluks terhadap rendemen ekstrak daun selutui PukA (*Tabernaemontana ma-*

crocarpa Jack). Jurnal Farmasi Galenika. 2019: 6(1):33–42.

17. Azzahra F, Sari IS, Ashari DN. Penetapan nilai rendemen dan kandungan zat aktif biji alpukat (*Persea americ*an Mill.) berdasarkan perbedaan pelarut ekstraksi. J Farm Higea. 2022;14(2):151-60.
18. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. Curr Med Chem. 2015;22(1):132-49.
19. Moreno Cardenas C, Çiçek SS. Structure-dependent activity of plant natural products against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Front Microbiol. 2023;14:1234115.
20. Khairunnisa N, Nasution AN, Lubis AA. Pengaruh ekstrak biji alpukat (*Persea Americana* Mill.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada luka diabetes metode difusi cakram. Jumkes. 2024;2(3), 270–81.