# Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Alpukat (Persen americana miller) Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa

by Yesi Wulandari 201310056

**Submission date:** 29-Sep-2023 06:24PM (UTC+0800)

**Submission ID:** 2180446490

File name: yesi\_uji\_turnit-1\_-\_Lg\_Yesi.docx (659.24K)

Word count: 7651

Character count: 50673

## KARYA TULIS ILMIAH UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN ALPUKAT

(Persea americana miller) TERHADAP BAKTERI

Pseudomonas aeruginosa



YESI WULANDARI 201310056

PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS FAKULTAS VOKASI INSTITUT TEKNOLOGI SAINS DAN KESEHATAN INSAN CENDEKIA MEDIKA JOMBANG 2023

## BAB 1

## **PENDAHULUAN**

## 1.1 Latar Belakang

Bakteri Pseudomonas aeruginosa adalah mikroorganisme yang banyak menyebabkan infeksi nosokomial (Purnomo & Azzahra, 2021). Infeksi nosokomial, juga dikenal sebagai infeksi yang didapat di rumah sakit, adalah penyakit yang mungkin timbul pada pasien yang telah dirawat di rumah sakit setidaknya selama tiga hari di fasilitas kesehatan. Selain hal-hal di atas, penyakit ini juga dapat berdampak pada pasien yang menjalani intervensi medis berkepanjangan di luar masa inkubasi penyakit tertentu, atau pasien dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah (Adheline, 2019). Perkiraan kejadian infeksi nosokomial di seluruh dunia yang disebabkan oleh bakteri Pseudomonas aeruginosa berkisar antara 10% hingga 15%, dengan prevalensi lebih besar yaitu sekitar 10% hingga 20% yang sebagian besar terjadi di unit perawatan intensif (ICU). Penyakit khusus ini sering muncul dalam bentuk lesi dan cedera termal, yang menunjukkan ciri khas berupa keluarnya cairan bernanah berwarna hijau kebiruan. Dalam kasus yang lebih parah, masuknya kuman ke dalam sistem saraf pusat dapat menyebabkan berkembangnya meningitis. Infeksi pinggang dan saluran kemih merupakan kondisi medis yang sering menyerang individu (Prayitno, Saroyobudiyon dan Indrayudha, 2019).

Menurut *World Health Organization* (WHO) Penelitian menunjukkan bahwa sekitar 8,7% dari total 55 rumah sakit yang tersebar di 14 negara di Timur Tengah, Eropa, dan Asia Tenggara mengalami kejadian infeksi nosokomial (WHO,

2020). Pada tahun 2019 dilakukan penelitian secara global di inggris didapatkan data dari 13,7 juta kematian karena terinfeksi nosokomial dan terdapat 7,7 juta kematian yang disebabkan infeksi bakteri. Total jumlah kematian yang disebabkan oleh bakteri *Pseuomonas aeruginosa* adalah 54,9% (Ikuta *et al.*, 2022).

Pseudomonas aeruginosa dikaitkan dengan penyakit yang kompleks dan terkadang mengancam jiwa, sehingga memerlukan penggunaan antibiotik sebagai pendekatan terapi utama (Wijaya, 2020). Bakteri Pseudomonas aeruginosa mengalami resisten terhadap beberapa antibiotik yaitu ampicillin, amoxillin, cefotaxime, ceftriaxone, chloramphenicol, ertapenem, fosfomycin, tetracyclines, trimethopim. Resistensi antibiotik dapat terjadi karena beberapa faktor, seperti berkurangnya permeabilitas membran, adanya sistem pompa penghabisan, berkembangnya enzim yang memfasilitasi inaktivasi antibiotik, dan penggunaan antibiotik dengan spektrum aktivitas yang tidak sesuai (Leyana, 2021). Meningkatnya resistensi bakteri terhadap antibiotik menghadirkan prospek yang berpotensi menguntungkan untuk memperoleh obat antibakteri melalui pemanfaatan senyawa aktif yang berasal dari keanekaragaman hayati (Purnomo & Azzahra, 2021).

Tumbuhan mencakup beragam organisme biologis yang menghuni lingkungan kita. Sepanjang sejarah, tumbuhan telah digunakan untuk khasiat terapeutiknya sejak zaman kuno. Indonesia merupakan negara yang berlahan subur sehingga menyebabkan banyak tumbuhan yang tumbuh subur salah satunya adalah tanaman alpukat. Daun alpukat merupakan sumber tumbuhan yang memiliki khasiat obat ( *Persea americana miller* ) (Anggorowati, Priandini and Thufail, 2016). Pemanfaatan daun alpukat sebagai antibakteri dimungkinkan karena adanya

senyawa bioaktif yang mempunyai sifat menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin merupakan senyawa bioaktif yang memiliki mekanisme yang mampu menghambat perkembangbiakan bakteri. Khasiat antibakteri daun alpukat mungkin disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang mampu menghambat perkembangbiakan bakteri (Wijaya, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian Purnomo dan Azzahra (2021), ekstrak daun alpukat menunjukkan efek penghambatan terhadap perkembangbiakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bila diberikan dengan dosis 2% (5,68±0,15mm) 4% (6,16±0,03mm) 6% (6,65±0,06mm) 8% (7,55±0,20mm) dan 10% (6,41±0,06mm) kelompok perlakuan ekstrak daun alpukat menunjukkan zona hambat yang termasuk dalam kategori resisten berdasarkan luasnya pembentukan zona hambat yang diamati (Purnomo & Azzahra, 2021).

Pencegahan dan pengobatan mujarab terhadap kolonisasi bakteri dan penyakit yang diakibatkan *Pseudomonas aeruginosa* perlu dilakukan untuk mengurangi berbagai dampak negatif dengan cara rajin memcuci tangan dengan air mengalir, menkomsumsi makanan yang sudah dimasak atau matang, dianjurkan untuk tidak melakukan kontak dengan mata, hidung, dan mulut ketika tangan terkontaminasi. Selain itu, disarankan untuk meminimalkan interaksi langsung dengan orang yang sedang tidak sehat dan menggunakan masker saat beraktivitas di luar tempat tinggal (Nasri *et al.*, 2022).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan menggunakan flora asli, khususnya dengan fokus pada kelimpahan pohon alpukat di Indonesia yang mudah diakses. Oleh karena itu, hal ini memotivasi penulis untuk memulai upaya penelitian dengan judul "Uji Efektivitas Antibakteri

Ekstrak Daun Alpukat Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa".

## 2 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diberikan, rumusan masalah untuk penelitian ini adalah "Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun alpukat (*Persea americana mill*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun alpukat (Persea americana mill) terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa.

## 1.4 Manfaat Penelitian

## 1.4.1. Manfaat Teoritis

Upaya penelitian ini bertujuan untuk memberikan kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan di bidang bakteriologi mengenai uji efektivitas antibakteri ekstrak daun alpukat terhadap bakteri pseudomonas aeruginosa dan dapat sebagai referensi bagi pembaca.

## 1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dan pertimbangan bagi masyarakat agar dapat memanfaatkan daun alpukat (*Persea americana mill*) sebagai alternatif pengobatan pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa* dari bahan alam.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Alpukat (Persea americana miller)

2.1.1 Pengertian Alpukat

Alpukat adalah spesies tumbuhan asli Meksiko dan Amerika Tengah.

Menurut Marsigit (2016), alpukat tumbuh subur di suhu tropis dan subtropis,

menjadikan Indonesia sebagai lokasi ideal untuk budidayanya. Kehadiran

tumbuhan khusus ini banyak terlihat di beberapa wilayah Indonesia, antara lain

Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sumatera Barat, Nusa Tenggara Timur,

Lampung, dan Sulawesi Selatan. Jawa Barat dikenal sebagai wilayah utama

budidaya alpukat dengan volume produksi tertinggi di sektor ini (Verti, Mustikarini

dan Lestari, 2021). Meski pohon alpukat tidak berakar di Indonesia, namun

kehadirannya di sana kini sudah diakui oleh masyarakat luas. Khasiat obat dari

pohon alpukat telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional untuk

mengobati beberapa kondisi, termasuk diabetes, sariawan, hipertensi, urolitiasis,

ketidaknyamanan gigi, dan peradangan. Mayoritas tanaman alpukat ini memiliki

kualitas terapeutik (Anggorowati, Priandini and Thufail, 2016).

2.1.2 Klasifikasi Alpukat

Menurut prinsip taksonomi, tanaman alpukat dapat dikategorikan dan

dikelompokkan, berikut:

Kingdom: Plantae

Phylum: Spermatophyta

Class: Dicotyledonae

Ordo : laurales

Family: Lauraceae

Genus : Persea

Spesies : Persea americana miller

## 2.1.3 Pengertian Daun Alpukat

Daun pohon alpukat mengandung serat makanan dan antioksidan dalam jumlah besar, menjadikannya sumber senyawa bermanfaat yang patut dipuji. Selain itu, daun alpukat menunjukkan sifat anti-inflamasi. Di Indonesia daun alpukat dikenal dengan sebutan jambu wolanda, plokat, avokat (Prasetyo dan Hasyim, 2022). Daun alpukat memiliki rasa pahit dan dianggap kaya akan serat makanan dan antioksidan, termasuk *fenol* dan *flavonoid*. Senyawa tersebut memiliki sifat antiinflamasi dan mampu menghambat perkembangbiakan banyak bakteri, antara lain *Staphylococcus sp*, *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, *Escherichia sp*, *dan basillus sp*. Selain kegunaan kulinernya, daun alpukat telah terbukti memiliki khasiat terapeutik untuk beberapa kondisi kesehatan. Ini termasuk pengobatan sariawan, batu saluran kemih, hipertensi, xeroderma, sakit gigi, pembengkakan akibat peradangan, dan diabetes (Anggorowati, Priandini dan Thufail, 2016).



Gambar 2. 1 Daun Alpukat

(Anggorowati, Priandini dan Thufail, 2016).

## 2.1.4 Morfologi Daun Alpukat

Daun pohon alpukat bercirikan daun soliter yang menempel pada tangkai dengan panjang 1-5,5 cm. Daun-daun ini bergerombol rapat di ujung ranting dan memperlihatkan bentuk lonjong hingga lonjong memanjang. Mereka dikelompokkan secara menyirip, memiliki ujung dan pangkal yang tajam, serta memiliki ketebalan yang setara dengan kulit. Panjang daunnya bisa mencapai 20 sentimeter, sedangkan lebarnya bisa antara 3 hingga 10 cm. Dedaunan remaja memiliki rona kemerahan dan memiliki kepadatan trikoma yang tinggi, namun dedaunan dewasa tidak memiliki rambut, menampilkan warna hijau, dan bercirikan rasa pahit (Verti, Mustikarini dan Lestari, 2021).

## 2.1.5 Kandungan Zat Aktif Daun Alpukat

Senyawa aktif yang mempunyai kemampuan menghambat perkembangan bakteri adalah *flevonoid*, *alkaloid*, *tanin*, *dan saponin* (Wijaya, 2020).

1. Flavonoid adalah sejenis bahan kimia metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan hijau. Karena berperan sebagai antioksidan dalam tubuh manusia, telah terbukti sangat efektif dalam pencegahan kanker. Flavonoid adalah yang ditemukan dialam (Anggorowati, Priandini dan Thufail, 2016). Senyawa fenolik yang menunjukkan sifat lipofilik merupakan kategori yang paling luas, dan memiliki khasiat antibakteri melalui gangguan pada membran dan dinding sel. Membran sel berfungsi sebagai komponen integral organisme bakteri, memberikan penghalang pelindung. Sebaliknya, dinding sel mengambil peran pengatur dalam mengatur proses reproduksi bakteri. Jika terjadi kerusakan, bakteri tersebut akan musnah (Wijaya, 2020).

- Alkaloid memiliki mekanisme antibakteri pada daun alpukat melibatkan penghambatan DNA bakteri, sehingga memberikan efek terhadap bakteri gram negatif dan gram positif (Wijaya, 2020).
- 3. Saponin menunjukkan cara penghambatan bakteri melalui afinitas pengikatannya terhadap kompleks polisakarida yang ada di dinding sel. Selain itu, senyawa saponin hidrofobik mempunyai kemampuan meningkatkan permeabilitas membran sel (Wijaya, 2020).
- 4. *Tanin* terdapat pada beberapa tumbuhan berpembuluh, sebagian besar pada jaringan kayu, dan tersebar di berbagai daerah daun. Tanin merupakan molekul bioaktif yang dapat ditemukan pada daun dan diketahui memiliki tindakan anti diare. Selain itu, mereka memiliki efek penghambatan terhadap bakteri yang diketahui menyebabkan diare, seperti *Salmonella typi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Escherichia coli*. *Tanin* juga merupakan agen antibakteri yang efektif karena menyebabkan protoplasma bakteri menggumpal, yang mengarah pada pengembangan ikatan yang stabil dengan protein bakteri (Wijaya, 2020).

### 2.1.6 Manfaat Daun Alpukat

Menurut Irawati (2015), daun alpukat mempunyai khasiat obat dan sering digunakan dalam pengobatan tradisional. Daun alpukat memiliki berbagai kandungan antara lain vitamin E dengan konsentrasi 3,4 mg/100 gg, mineral dengan kandungan natrium rendah, zat besi yang membantu produksi sel darah merah, tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, asam lemak tak jenuh. dengan sifat antioksidan kuat, zat filantik, dan potasium yang membantu melancarkan aliran urin (Sylvia, 2021). Selain kegunaan kulinernya, daun alpukat telah terbukti memiliki khasiat obat yang mungkin bermanfaat dalam pengobatan beberapa kondisi kesehatan. Ini

termasuk sariawan, batu saluran kemih, hipertensi, kulit wajah kering, sakit gigi,

edema akibat peradangan, dan diabetes (Anggorowati, Priandini dan Thufail, 2016).

2.2 Pseudomonas aeruginosa

2.2.1 Pengertian Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen utama dalam grup

Pseudomonas dan menjadi salah satu jenis bakteri yang tersebar dipermukaan tanah

dan air. Bakteri yang disebutkan di atas dikenal sebagai agen etiologi utama

penyakit menular, yang sering terlihat pada mikrobiota saluran cerna dan dermis

manusia (Shafira, Ethica, & Ernanto, 2022). Bakteri Pseudomonas aeruginosa

dikenal sebagai agen etiologi infeksi nosokomial yang signifikan, sebagian besar

menyerang individu dengan sistem kekebalan yang lemah. Pasien yang dirawat di

unit perawatan intensif (ICU) menunjukkan peningkatan risiko infeksi yang

signifikan, berkisar antara lima hingga 10 kali lebih tinggi dibandingkan pasien

rawat inap non-ICU. Kerentanan yang meningkat ini mungkin disebabkan oleh dua

faktor utama: pertama, lemahnya respons imun akibat penyakit yang mendasarinya;

dan kedua, penggunaan peralatan medis invasif di ICU (Dharmayanti dan Sukrama,

2019).

Kingdom: Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Class: Gamma Proteobacteria

2.2.2 Klasifikasi Pseudomonas aeruginosa

Ordo: Pseudomonadales

Family: Pseudomonadaceae

Genus: pseudomonas

Spesies : pseudomanas aeruginosa

2.2.3 Morfologi Pseudomonas aeruginosa

Bakteri Pseudomonas aeruginosa tergolong bakteri gram negatif dengan

ciri ukurannya kira-kira 0,6 x 2 mm. Bakteri ini berbentuk batang atau kokus dan

dapat dilihat sebagai sel individual, berpasangan, atau kadang tersusun dalam rantai

pendek (Armiati dan Arisanti, 2021). Bakteri ini bersifat aerob obligat dan

termasuk patogen oportunistik, motil mempunyai flagel polar dan tidak dapat

menfermentasi karbohidrat, dan oksidase positif, katalase positif, nonfermenter dan

tumbuh dengan baik pada suhu 4° C atau dibawah 43° C (sabrina, hendri 2015).

Pertumbuhan bakteri Pseudomonas aeruginosa telah terlihat pada beberapa jenis

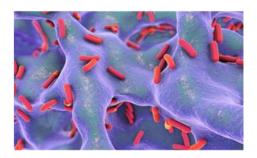
media budidaya, dan beberapa strain bakteri ini terbukti mampu menginduksi

hemolisis darah. Koloni Pseudomonas aeruginosa mempunyai morfologi bulat dan

menampilkan ciri khas cahaya hijau. Bakteri Pseudomonas aeruginosa mampu

mensintesis pigmen fluoresen pyoverdine, menghasilkan manifestasi warna

kehijauan pada media agar (Shafira, Ethica dan Ernanto, 2022).



Gambar 2. 2 Bakteri Pseudomonas aeruginosa

## 2.2.4 Patogenitas Pseudomonas aeruginosa

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mungkin menunjukkan patogenisitas ketika mereka masuk ke dalam tubuh melalui mekanisme pertahanan yang terganggu, termasuk selaput lendir dan kulit yang rusak akibat cedera jaringan. Kehadiran bakteri ini terkait dengan penggunaan peralatan medis seperti kateter, stetoskop, dan alat serupa lainnya, serta memiliki kemampuan menyebabkan infeksi pada orang yang sistem kekebalannya sudah terganggu. Setelah menempel pada selaput lendir atau kulit dan membentuk koloni di sana, bakteri ini menembus jaringan di sekitarnya, yang pada akhirnya menyebabkan penyakit sistemik. Pili, enzim, dan racun semuanya berperan penting dalam memfasilitasi proses ini (Yulianto, 2021). Bakteri yang dikenal sebagai *Pseudomonas aeruginosa* memiliki pili yang memanjang dari permukaan selnya, dengan tujuan menempel pada sel epitel organisme inang. Mayoritas strain *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari infeksi klinis mempunyai kemampuan mensintesis enzim ekstraseluler, antara lain sebagai *elastase*, *protease*, dan dua *hemolisin*, yaitu *fosfolipase* C yang tahan terhadap panas dan *glikolipid* yang tetap stabil pada suhu tinggi (Endah, 2017).

## 2.3 Antibakteri

#### 1.3.1 Pengertian Antibakteri

Antibakteri mengacu pada senyawa yang memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan bakteri dan menghilangkan kuman berbahaya. Salah satu kategori zat antibakteri yang digunakan untuk tujuan ini adalah antibiotik (Magani, Tallei dan Kolondam, 2020). Toksisitas selektif merupakan ciri obat yang digunakan untuk membasmi kuman penyebab infeksi. Selain menggunakan antibiotik dapat juga menggunakan tanaman yang mengandung zat antibakteri salah satunya adalah daun alpukat. Bahan kimia antibakteri mengacu pada zat yang memiliki kemampuan untuk menghambat perkembangan atau menyebabkan kematian bakteri dengan mengganggu proses metabolisme mikroorganisme berbahaya (Sinuraya, Yoswaty dan Nursyirwani, 2019).

## 2.3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Evaluasi aktivitas antibakteri suatu zat, juga dikenal sebagai uji aktivitas eradikasi, sering digunakan sebagai metode untuk menentukan sejauh mana bakteri rentan terhadap efek terapeutik obat antibakteri. Terbentuknya zona hambat dapat diartikan sebagai bukti adanya aktivitas antibakteri. Ada dua pendekatan yang dapat digunakan dalam melakukan pengujian aktivitas antibakteri, yaitu sebagai berikut:

#### 1. Metode difusi

Teknik difusi digunakan untuk menilai kerentanan mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Selama prosedur pengujian sensitivitas yang menggunakan metode difusi, kertas cakram merupakan media pengujian pilihan. Untuk membudidayakan bakteri, potongan kertas berbentuk lingkaran ditempatkan di dalam media kultur yang terdiri dari agar-agar yang telah terkontaminasi bakteri

sebelumnya. Bahan kimia uji dimasukkan ke dalam medium. Salah satu manfaat penting dari penggunaan pendekatan ini adalah kemampuannya untuk diuji secara paralel dalam skala besar, sekaligus memerlukan konsumsi energi yang lebih sedikit. Sebagai konsekuensi langsung dari hal ini, tingkat konsentrasi yang lebih besar dapat digunakan untuk prosedur pengujian dalam periode waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan pendekatan yang mencakup pengenceran (Rafika, Apridamayanti dan Pratiwi, 2022). Zona hambat pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah tidak ada hambatan 0 mm, lemah <5 mm, sedang 5-10 mm, kuat 10 -20 mm, sangat kuat >20 mm (Faradina, Mastra dan Wayan Karta, 2019).

Macam - macam metode difusi:

## a. Metode difusi cakram

Pendekatan yang digunakan dalam menilai kemanjuran senyawa antibiotik alami terbukti sangat berhasil (Bonggol, 2018). Teknik yang disebutkan di atas melibatkan kuantifikasi area penghambatan yang berkembang di sekitar kertas cakram yang digunakan untuk penilaian kemanjuran antimikroba. Salah satu manfaat penting dari penggunaan pendekatan khusus ini adalah kemampuannya untuk memberikan pengujian yang dipercepat pada persiapan disk. Namun, keterbatasan penting dari teknik ini terletak pada penerapannya yang menantang pada mikroorganisme yang ditandai dengan laju pertumbuhan yang lamban di dalam zona bening (Nurhayati, Yahdiyani dan Hidayatulloh, 2020).

## b. Metode sumuran

Untuk menyelesaikan tugas tersebut, perlu dilakukan pelubangan pada media agar padat yang sebelumnya telah terkontaminasi bakteri dengan cara mengebor lubang. Selanjutnya kekosongan tersebut diisi dengan item penilaian yang akan diteliti setelah dipastikan jumlah dan penempatan kekosongan tersebut sesuai dengan tujuan penelitian. Teknik sumur mempunyai keuntungan dalam memudahkan pengukuran zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri, karena mampu mencari nutrisi baik di permukaan maupun di dasar. Fenomena ini mungkin disebabkan oleh fungsi ganda bakteri, yang mencakup aktivitas permukaan dan bawah permukaan. Bakteri mempunyai kapasitas untuk memperoleh nutrisi tidak hanya melalui interaksi di permukaan, namun juga melalui kemampuannya untuk berpindah ke lokasi tersebut. Salah satu keterbatasan pendekatan sumur adalah adanya sisa agar pada media yang digunakan. Selain itu, ada potensi keretakan atau patah pada media agar di sekitar lubang, yang dapat menghambat penyerapan antibiotik secara efektif ke dalam lubang. Berbagai bentuk media berpotensi mempengaruhi kejelasan zona selama pelaksanaan uji sensitivitas. (Rafika, Apridamayanti dan Pratiwi, 2022).

### c. Metode silinder

Dalam prosedur percobaan saat ini, sejumlah benda berbentuk silinder yang terbuat dari kaca atau logam yang tahan terhadap kertas ditempatkan di atas media agar yang telah terkontaminasi bakteri di masa lalu. Penempatan masing-masing silinder sedemikian rupa sehingga memungkinkan orientasi vertikal pada media agar. Selanjutnya, silinder diisi dengan larutan uji dan dikenai masa inkubasi selama 24 jam, di mana daerah transparan yang berbeda dapat terlihat. Salah satu keuntungan menggunakan pendekatan ini adalah kemampuannya untuk memberikan indikasi yang jelas mengenai kuantitas obat yang disalurkan ke dalam medium. Sebaliknya, kelemahan yang terkait dengan teknik ini adalah

meningkatnya tingkat bahaya karena kerentanan silinder terhadap jatuh (Rafika, Apridamayanti dan Pratiwi, 2022)

## 2. Metode dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang sering digunakan untuk mengevaluasi efektivitas suatu bahan kimia dalam mempengaruhi aktivitas mikroorganisme (Rafika, Apridamayanti and Pratiwi, 2022)

Metode dilusi dibagi menjadi 2, yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat.

- a. Metode dilusi cair digunakan untuk penentuan konsentrasi hambat minimum (MIC). Pendekatan dilusi cair melibatkan pembuatan urutan pengenceran obat antimikroba dalam media cair yang dilengkapi dengan mikroorganisme uji (Fitriana, Fatimah dan Fitri, 2020)
- b. Metode dilusi padat digunakan untuk penentuan kadar bakterisida minimum (KBM). Menginokulasi bakteri uji ke dalam media agar yang telah mengandung zat antimikroba merupakan langkah pertama dalam prosedur pengenceran padat. (Fitriana, Fatimah dan Fitri, 2020).

#### 2.4 Ekstraksi

## 2.4.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi mengacu pada metode prosedural untuk mentransfer bahan atau zat terlarut tertentu dari larutan awal atau keadaan padat ke dalam pelarut yang ditentukan. Ekstraksi adalah teknik pemisahan yang mengandalkan variasi kelarutan konstituen dalam suatu campuran. Secara umum, ekstraksi dapat dikategorikan menjadi dua jenis, khususnya:

1. Ekstraksi padat – cair (*Leaching*)

Leaching mengacu pada prosedur ilmiah untuk mengekstraksi zat terlarut dari bahan inert dan tidak larut. Metode ekstraksi padat-cair terutama terdiri dari dua tahap utama: interaksi antara bahan padat dan pelarut, dan selanjutnya pemisahan larutan yang dihasilkan dari komponen inert.

#### 2. Ekstraksi cair – cair (Solven ekstraction)

Solven ekstraction adalah teknik pemisahan fase cair yang memanfaatkan ketidaksamaan kelarutan zat terlarut yang akan diisolasi antara larutan awal dan pelarut ekstraksi (Solvent).

#### 2.4.2 Metode Ekstraksi

- 1. Metode ekstraksi cara dingin ada 2 yaitu masurasi dan perkolasi.
  - a. *Maserasi* adalah metode paling umum dilakukan. Metode *maserasi* adalah teknik ekstraksi berbasis pelarut dimana bahan direndam dalam pelarut yang sesuai untuk memudahkan ekstraksi komponen aktif yang diinginkan. Proses ini dapat dilakukan dengan atau tanpa penggunaan panas, tergantung pada kebutuhan spesifik ekstraksi. Pemanfaatan metode ekstraksi ini memberikan manfaat dalam menjaga integritas senyawa aktif, sehingga meminimalkan risiko potensi kerusakan (Chairunnisa *et al.*, 2019). Selain itu, prosedur ini mempunyai kelemahan tertentu, seperti memakan waktu dan membutuhkan banyak pelarut (Nurhabiba dan Wulan, 2020).
  - b. Perkolasi adalah teknik ekstraksi yang banyak digunakan dalam aplikasi industri, yang dipengaruhi oleh waktu dan rasio pelarut (Rosidah et al., 2017). Teknik perkolasi adalah dengan merendam serbuk simplisia dalam suatu pelarut sehingga menyebabkan rongga simplisia mengembang sehingga memudahkan penetrasi pelarut ke dalam sel. Proses perkolasi digunakan

untuk mencapai ekstraksi total zat-zat nutrisi, terutama yang memiliki sifat tahan panas atau peka terhadap panas, dengan tujuan memaksimalkan kemanjurannya (Hasrianti, Nururrahmah, 2016).

- 2. Metode ekstraksi cara panas ada 5 yaitu refluks, soxhlet, Infuse, digesti, dekok.
  - a. *Refluks* mengacu pada prosedur di mana ekstraksi dilakukan dengan pelarut pada suhu di atas titik didihnya untuk jangka waktu yang telah ditentukan, dalam jumlah pelarut yang terbatas dan cukup konstan, dengan menggunakan pendinginan terbalik. (Hasrianti, Nururrahmah, 2016). Metodologi yang digunakan dalam pnelitian ini dibedakan oleh fakta bahwa metodologi ini bersifat berkelanjutan, dimana cairan penyaring digunakan untuk secara konsisten menyaring bahan kimia aktif yang ada dalam simplisia. Cairan di dalam filter terkena energi panas, menyebabkannya mengalami penguapan, yang mengakibatkan kondensasi uap menjadi bentuk molekul. Prosedur ini dilakukan secara terus menerus dan seringkali dilakukan sebanyak tiga kali dalam kurun waktu empat jam.
  - b. Soxhlet memerlukan pelarut dengan tingkat yang lebih tinggi sehingga relatif menghabiskan banyak biaya, prosedur khusus ini khususnya menguntungkan untuk zat yang menunjukkan kerentanan yang dapat diabaikan terhadap efek termal (Putu et al., 2021).
  - c. Infuse meliputi ekstraksi senyawa dengan menggunakan air sebagai pelarut dan berlangsung selama lima belas menit dengan suhu sembilan puluh derajat Celcius dalam penangas air (Hasrianti, Nururrahmah, 2016).

- d. *Digesti* mengacu pada proses maserasi kinetik, yang melibatkan pengadukan terus menerus, yang dilakukan pada suhu tinggi melebihi suhu ruangan, yaitu dalam kisaran 40-50°C (Endah, 2017)
- e. Dekok melibatkan pemaparan suatu bahan pada panas dalam jangka waktu yang lama dan pada suhu yang cukup tinggi hingga mendekati titik didih air, yaitu antara 90 dan 100°C dengan durasi 30 menit (Endah, 2017).

## 2.5 Efek Antibakteri Daun Alpukat Terhadap Bakteri *Pseudomonas*aeruginosa

Menurut Anjas (2018), daun alpukat memiliki lima cara kerja berbeda yang menunjukkan sifat antibakteri. Mekanisme ini meliputi penghambatan pembentukan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, penghambatan aktivitas enzim, modifikasi asam nukleat, dan penekanan sintesis asam nukleat dan protein bakteri. Daun tanaman alpukat diketahui mengandung sejumlah besar bahan kimia bioaktif, antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang diketahui memiliki sifat antibakteri. Alkaloid memiliki kapasitas untuk menghambat aktivitas enzimatik yang terlibat dalam sintesis protein bakteri. Daun alpukat memiliki bahan kimia flavonoid yang memiliki sifat antibakteri. Kemanjuran antimikroba dari flavonoid ini dicapai dengan menginduksi kerusakan struktural pada dinding dan membran sel bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Tanin memberikan efek antibakteri melalui proses koagulasi, dimana protoplasma bakteri diagregasi, menghasilkan pembentukan ikatan yang stabil dengan protein bakteri (Seko, Sabuna dan Ngginak, 2021). Menurut Wijaya (2020), Saponin memiliki mekanisme dimana ia memberikan efek penghambatan pada bakteri melalui kemampuannya untuk mengikat kompleks polisakarida yang terletak di dalam

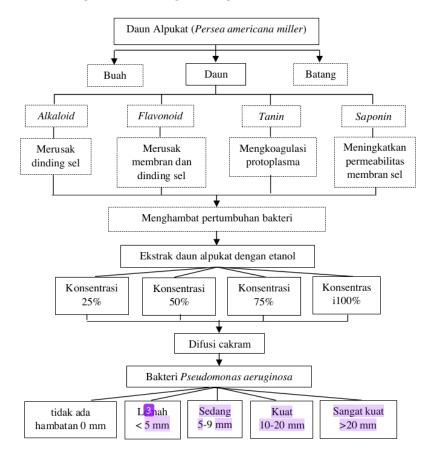
	dinding sel bakteri. Selain itu, senyawa saponin hidrofobik telah diamati memiliki kapasitas untuk meningkatkan permeabilitas membran sel. Daun alpukat memiliki					
sifat antibakteri yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri						
(Purnomo&Azzahra, 2021).						

## BAB 3

## KERANGKA KONSEPTUAL

## 3.1 Kerangka Konseptual

Penelitian ini dipandu oleh kerangka konseptual berikut:



Gambar 3.1 Kerangka konseptual uji efektivitas ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Keterangan:	
	: Diteliti
	: Tidak ditelit

## 3.2. Penjelasan Kerangka Konsep

Daun tanaman alpukat, yang secara ilmiah dikenal dengan nama *Persea Americana Mill*, memiliki khasiat menghambat perkembangbiakan mikroorganisme. Kemampuan daun alpukat dapat menghambat bakteri karena memiliki zat aktif seperti *flevonoid* yang dapat merusak membran dan dinding sel, *alkaloid* dapat merusak dinding sel, *tanin* dapat mengkoagulasi protoplasma dan *saponin* Salah Meningkatkan permeabilitas membran sel.

Sifat antimikroba ekstrak daun alpukat diselidiki dengan melakukan pengujian terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Konsentrasi ekstrak yang berbeda (25%, 50%, 75%, dan 100%) dievaluasi menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur zona hambat, termasuk tidak adanya zona apa pun. Tingkat daya hambatnya dapat dikategorikan sebagai berikut: terhambat (0 mm), lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm), dan sangat kuat (> 20 mm).

## BAB 4

## METODE PENELITIAN

## 4.1 Jenis Penelitian dan Rencana Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam kategori penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif mengacu pada pendekatan metodologis yang berupaya menjelaskan dan memaparkan kejadian penting yang terjadi dalam jangka waktu saat ini (Jayusman, 2020), karena peneliti ingin mengetahui apakah ekstrak daun alpukat (*Persela american mill*) dapat memperlambat tumbuhnya bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

## 4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

## 4.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Agustus 2023, meliputi seluruh tahapan mulai dari pengembangan proposal hingga pembuatan laporan akhir.

## 4.2.2 Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di "Laboratorium Bakteriologi Program Studi D-III Ahli Teknologi Laboratorium Medik Institut Teknologi Sains dan Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang".

## 4.3 Objek Penelitian dan Sampling

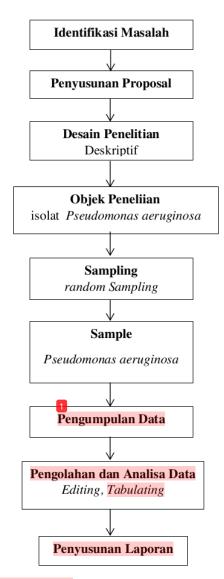
## 4.3.1 Objek Penelitian

Objek penelitian ini merupakan pemanfaatan isolat bakteri Pseudomonas aeruginosa yang didapat dari laboratorium mikrobiologi RSUD Jombang.

## 4.3.2 Sampling

Sampling adalah suatu metode yang digunakan dalam penelitian untuk memilih sekelompok individu atau sesuatu dari populasi yang lebih besar dengan tujuan mengumpulkan data dan menarik kesimpulan tentang keseluruhan populasi. Sampling adalah prosedur metodis yang digunakan untuk memilih orang atau objek. Penelitian ini menggunakan metode *random sampling*, suatu bentuk pengambilan sampel probabilitas yang memastikan peluang seleksi yang sama bagi setiap individu dalam kelompok sasaran (Faiqotululya, sukestiyarno dan putriaji, 2018).

## 4.4 Kerangka Kerja



4.1 Gambar Kerangka Kerja pengujian daya hambat ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

## 1 4.5 Variabel dan Definisi Operasional Variabel

## 4.5.1 Variabel

Variabel bebas yang diteliti pada penelitian ini adalah khasiat antibakteri ekstrak daun alpukat (*Persea americana mill*) terhadap perkembangbiakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

## 4.5.2 Definisi Operasional Variabel

Tabel 4. 1 Definisi operasianal variabel penelitian

No	Variabel	Definisi Operasional variabel	Parameter	Alat ukur	Kriteria
1.	Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun alpukat terhadap pertumbuhan bakteri Pseudomonas aeruginosa.	Efek daya hambat ekstrak daun alpukat dengan etanol dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% apakah mampu menghambat pertumbuhn bakteri Pseudomonas aeruginosa	Uji daya hambat dengan metode difusi cakram	Jangka sorong	Tidak ada hambatan mm Lemah < 5 mm Sedang 5-10 mm Kuat 10-20 mm Sangat kuat < 20 mm (Faradina, Mastra dan Wayan, 2019).

## 4.6 Pengumpulan Data

## 4.6.1 Instrumen Penelitian

Observasi adalah metode pengumpulan data untuk penelitian ini.

## 2.6.2 Alat dan Bahan

## a. Alat

- 1. Autoclave
- 2. Batang pengaduk
- 3. Kertas saring
- 4. Cawan petri
- 5. Neraca analitik
- 6. Colony counter
- 7. Erlenmayer
- 8. Beaker glass
- 1 9. Hot plate
- 10. Inkubator
- 11. Alumunium foil
- 12. Paper disk
- 13. Ose bulat dan jarum
- 14. Oven
- 15. Kapas
- 16. Bunsen
- 17. Jangka sorong
- 18. Pinset
- 19. Tabung reaksi
- 20. plastik wrab
- 21. Mortar

## b. Bahan

- 1. Daun alpukat (Persea americana mill)
- 2. Bakteri Pseudomonas aeruginosa
- 3. Media NA (Nutrien Agar)
- 4. Media MHA (Muller Hinton Agar)
- 5. Etanol 96%
- 6. Aquades
- 7. Bacl2
- 8. H2SO4
- 9. Ciprofloxacin 500g

#### 4.6.2 Prosedur Penelitian

#### a. Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi meliputi pembersihan alat terlebih dahulu untuk menghilangkan kuman dengan cara mencuci secara menyeluruh, selanjutnya mengeringkan, dan selanjutnya membungkusnya dengan aluminium foil. Peralatan yang dibungkus kemudian diautoklaf pada suhu 121°C dengan durasi 15-20 menit (Purnomo dan Azahra 2021).

- b. Pembuatan ekstrak daun alpukat (Persela american mill)
  - Menimbang daun alpukat yang sudah tua sebanyak 3 kg dikeringkan dengan cara tidak terpapar sinar matahari langsung karena akan merusak komponen didalamnya, kemudian dihaluskan dengan cara diblender sampai halus.
  - Untuk melakukan percobaan, perlu ditimbang 200 gram daun alpukat yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan.

- Tambahkan 1 liter larutan etanol 96%, aduk selama 10 menit hingga larutan homogen.
- 4. Merendam bahan dalam media cair selama total durasi 120 jam, diikuti dengan penggunaan kertas saring untuk memisahkan campuran yang dihasilkan menjadi dua komponen: filtrat dan residu.
- 5. Residunya harus melalui proses perendaman lebih lanjut dalam larutan yang terdiri dari 600 mililiter ekstrak etanol 96% selama dua hari. Setelah prosedur maserasi dan remaserasi selesai, filtrat yang dihasilkan dipekatkan, kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarut etanol dan menurunkan jumlah air yang ada. Proses penguapan ini dilakukan dalam oven dengan durasi 24 jam (Gabriella dan Fatimawali, 2022).

## c. Pembuatan media NA (Nutrien Agar)

- 1. Metimbang media NA sebanyak 2,8 gram.
- Menambahkan aquades steril 100 ml pada beaker glass kemudian panaskan diatas hot plate sampai larut lalu masukan pada erlenmayer tutup dengan aluminium foil dan kapas steril.
- 3. Mensterilkan media pada suhu 121°C selama 15 menit di autoclave.
- 4. Menuang 5 ml media NA kedalam 3 tabung reaksi lalu dimiringkan dan tunggu sampai memadat, selanjutnya spesimen ditutup dengan lapisan plastik wrap untuk menjaga sterilitas dan mencegah kontaminasi..
- Media sebelum digunakan inkubasi selama 24 jam (Purnomo dan Azahra 2021).

#### d. Pembuatan media MHA

1. Menimbang media MHA sebanyak 7,6 gram.

- Melarutkan media MHA dengan aquadest 200 ml pada beaker glass diatas hot plate.
- Menuang media yang sudah larut pada erlenmayer kemudian ditutup dengan kapas steril dan alumunium foil.
- 4. memasukan pada *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C.
- menuang pada cawan petri dan ditunggu sampai dingin selama 30 menit (Rundengan, Fatimawali dan Simbala, 2017).

## e. Pembuatan larutan uji

- Memasukan 1000 ul ekstrak daun alpukat kedalam tabung reaksi I sebagai konsentrasi 100% dan dimasukan disk disemua tabung yang berisi konsentrasi berbeda cakram kertas harus terkena ekstrak selama 15 menit, memastikan penyerapan menyeluruh..
- Memasukan 750 ul estrak daun alpukat kedalam tabung reaksi, tambah 250 ul aquadest steril (konsentrasi 75%).
- Memasukan 500 ul ekstrak daun alpukat kedalam tabung reaksi, tambah 500 ul aquadest steril (konsentrasi 50%).
- Memasukan 250 ul ekstrak daun alpukat, tambah 750 ul aquadest steril (konsentrasi 25%) (Intan et al., 2021).

## f. Membuat larutan kontrol

- 1. kontrol positif
  - a) Mengambil 1butir obat tablet Ciprofloxacin 500mg.
  - b) Menghaluskan dengan cara di tumbuk lalu diambil 50 mg
  - c) Melarutkan dengan aquadest 50  $\mu$ 1 (Gabriella dan Fatimawali, 2022).
- 2. kontrol negatif

- a) Menggunakan aquadest steril (Azzahra, Almalik dan Sari, 2019).
- g. Inokulasi bakteri pada media NA
  - 1. Menfiksasi ose jarum yang akan digunakan.
  - 2. Pindahkan satu koloni ke media agar miring dengan cara dikikis perlahan.
  - Melakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada inkubator (Gabriella dan Fatimawali, 2022).
- h. Pembuatan standart Mc. Farland.
  - 1. Memipet larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 9,950 ml masukan pada erlenmayer.
  - 2. Menambah Bacl2 sebanyak 0,05 ml.
  - Melarutkan campuran hingga menghasilkan larutan keruh, larutan ini akan berfungsi sebagai suspensi bakteri standar (Rundengan, Fatimawali dan Simbala, 2017).
- i. Pembuatan suspensi bakteri Pseudomonas aeruginosa.
  - 1. Menyiapkan biakan bakteri murni Pseudomonas aeruginosa.
  - 2. Dengan menggunakan loop bulat steril, isolasi satu koloni.
  - 3. Mensuspensi dengan NaCl 0,95% sebanyak 10.000 ul pada tabung reaksi.
  - Menstandarkan dengan kekeruhan larutan Mc. Farland (Rundengan, Fatimawali dan Simbala, 2017).
- j. Menyiapkan alat dan bahan. Prosedur uji daya hambat ekstrak daun alpukat (Persea americana miller) terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa.
  - Menfiksasi ose bulat dengan bunsen sampai membara, kemudian ditunggu sampai dingin agar tidak membunuh bakteri.
  - 2. Mengambil 1 koloni kemudian ditanam pada media MHA.
  - 3. Cawan petri perlu dipartisi menjadi tiga segmen yang setara.

- Menfiksasi pinset dengan api yang membara pada bunsen yang akan digunakan untuk meletakkan disk.
- 5. Metunggu pinset sampai dingin agar tidak membunuh bakteri.
- Mengambil disk yang sudah dimasukan dikonsentrasi yang berbeda pada daun alpukat selama 20 menit dengan pinset yang sudah difiksasi.
- 7. Spesimen harus ditempatkan di dalam area cawan petri yang telah ditentukan, sesuai dengan label yang sesuai. Selanjutnya, piringan harus ditutup rapat dengan lapisan bungkus plastik untuk mencegah potensi kontaminasi.
- 8. Sampel harus diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
- Mengamati adanya zona hambat (Rundengan, Fatimawali dan Simbala, 2017).

## 4.7 Teknik Analisa Data dan Pengolahan Data

Setelah penelitian selesai, temuan yang terkumpul akan dimasukkan melalui langkah-langkah selanjutnya untuk diproses:

## 4.7.1 Teknik Pengolahan data

## a. Editing

Editing melibatkan verifikasi kelengkapan informasi yang diidentifikasi, pemeriksaan tanggapan, klarifikasi dan verifikasi data yang diperoleh untuk meminimalkan risiko kesalahan pengukuran.

## b. Tabulating

Tabulating mengacu pada proses pengorganisasian dan penyajian data secara terstruktur menggunakan tabel. Makalah ini menyajikan hasilnya dalam format tabel, yang menggambarkan potensi efek penghambatan daun alpukat terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

## 4.7.2 Analisa Data

Proses analisis data mempunyai arti penting dalam pencapaian tujuan utama penelitian. Temuan yang dikumpulkan akan menjalani analisis data deskriptif berdasarkan kriteria yang telah ditentukan untuk menilai ada tidaknya zona penghalang pada prosedur implantasi cakram. Selanjutnya, rata-rata zona penghambatan dinilai berdasarkan ambang batas diameter berikut: 0 mm (menunjukkan tidak adanya resistensi), <5 mm (lemah), 5-10 mm (sedang), 10-20 mm (kuat) dan >20 mm (yang sangat kuat) (Faradina, Mastra dan Wayan, 2019).



## HASIL DAN PEMBAHASAN

## 5.1 Hasil Penelitian

#### 5.1.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di "Laboratorium Bakteriologi Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Vokasi Institut Teknologi Sains Dan Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang" dengan menggunakan ekstrak daun alpukat yang tua dan menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi RSUD Jombang.

## 5.1.2 Data Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun alpukat (Persea americana miller) terhadap perkembangbiakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan variasi dosis 20%, 50%, 75%, dan 100%. Pendekatan difusi cakram digunakan untuk penelitian ini karena sering digunakan dalam penelitian yang melibatkan penilaian zona hambat. Apabila zona hambat yang diamati berukuran kurang dari 5, maka tergolong lemah. Pengklasifikasian zona hambat sebagai sedang terjadi pada kisaran 5-10, sedangkan pengklasifikasian zona hambat kuat terjadi pada kisaran 10-20. Dalam penelitian ini ditunjukkan bahwa zona hambat lebih dari 20 unit tergolong efek hambat yang sangat kuat atau sangat kuat. Terlihat adanya zona hambat di sekitar kertas cakram, seperti terlihat pada tabel berikut:

Tabel 5. 1 Hasil pengamatan Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana Miller*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

NT.					Landal Pata arts Vatarras		
No	Perlakuan	Pengulangan		Jumlah	Rata-rata	Keterangan	
		1	2	3			
1	Konsentrasi	1 mm	1 mm	1 mm	3 mm	1 mm	Lemah
	20%	20					
2	Konsentrasi	2 mm	2 mm	1 mm	5 mm	1,6 mm	Lemah
	50%	20					
3	Konsentrasi	2 mm	3 mm	2 mm	7 mm	2,3 mm	Lemah
	75%						
4	Konsentrasi	5 mm	5 mm	5 mm	15 mm	5 mm	Sedang
	100%						
5	Kontrol	18 mm	16 mm	20 mm	54 mm	18 mm	Kuat
	positif (+)						
6	Kontrol	-	-	-	-	-	Tidak ada
	negatif (-)						zona hambat

Sumber: Data Primer 2023

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 5.1, zona hambat yang diamati bervariasi tergantung pada konsentrasi zat yang diuji. Pada konsentrasi rata-rata 25%, zona hambat berukuran 1 mm. Nilai yang diamati menunjukkan peningkatan menjadi 1,6 mm ketika konsentrasi mencapai 50%, dan kemudian meningkat menjadi 2,3 mm pada konsentrasi 75%. Zona hambat maksimum berukuran 5 mm terlihat pada konsentrasi zat 100%. Kontrol positif menunjukkan zona hambat sebesar 18 mm, namun kontrol negatif tidak menunjukkan zona hambat apa pun, dengan ukuran 0 mm, dari data yang dilakukan menunjukan setiap perlakuan konsentrasi zona hambat meningkat namun hasilnya menunjukan hasil lemah sampai sedang dan jauh dari kontrol positif yang menunjukan adanya zona hambat yang kuat.

#### 5.2 Pembahasan

Pemeriksaan dilakukan di "Laboratorium bakteriologi program studi D3 ATLM Institut Teknologi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika, Jombang". Penelitian ini menggunakan ekstrak daun alpukat sebagai alat untuk menilai kemanjuran penghambatan terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa. Prosesnya melibatkan maserasi ekstrak daun alpukat. Prosedur maserasi merupakan teknik ekstraksi langsung yang digunakan untuk memperoleh konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Pada proses ini, kontrol positif menggunakan Ciprofloxacin, sedangkan kontrol negatif menggunakan Aquadest steril. Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat antibakteri ekstrak daun alpukat terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa. Untuk memeriksa keberadaan zona hambat, akan digunakan teknik difusi cakram. Ekstrak daun alpukat (Persea americana miller) diuji efek antibakterinya terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan hasilnya menunjukkan rata-rata lebar zona hambat berubah sesuai dengan konsentrasi ekstrak. Diameter rata-rata bertambah dari 1 milimeter bila konsentrasi 25% menjadi 1,6 milimeter bila konsentrasi 50% menjadi 2,3 milimeter bila konsentrasi 75% menjadi 5 milimeter bila konsentrasi 100%. Untuk memudahkan perbandingan, kontrol positif menunjukkan adanya zona hambat yang memiliki diameter rata-rata 18 milimeter, sedangkan kontrol negatif menunjukkan tidak adanya zona hambat. Pengukuran yang diberikan adalah 0 milimeter.

Daun alpukat adalah tanaman yang memiliki manfaat sebagai sumber obat (Makopa et al., 2020). Pemanfaatan daun alpukat sebagai antibakteri disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang mempunyai sifat menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas

antibakteri daun alpukat yang diamati terhadap bakteri Pseudomonas aeruginosa mungkin disebabkan oleh adanya senyawa kimia alkaloid, yang memberikan efeknya dengan menginduksi kerusakan pada dinding sel bakteri. Mekanisme antibakteri dari alkaloid yang terkandung dalam daun alpukat melibatkan penghambatan DNA bakteri, sehingga memberikan efek terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Flavonoid memiliki kapasitas untuk mengganggu membran dan dinding sel, merupakan kategori senyawa fenolik lipofilik yang paling luas yang memiliki sifat antibakteri melalui mekanisme aksi yang disebutkan di atas. Membran sel berfungsi sebagai komponen integral organisme bakteri, memberikan penghalang pelindung yang melindungi komponen seluler internal. Sebaliknya, dinding sel mengambil peran pengatur dalam mengatur sistem reproduksi bakteri. Jika terjadi kerusakan, bakteri tersebut akan mengalami kematian. Saponin memainkan peran penting dalam meningkatkan permeabilitas membran sel. Proses ini secara efektif menghambat pertumbuhan bakteri dengan melekatkan kompleks polisakarida yang ada di dinding sel. Selain itu, senyawa saponin hidrofobik mempunyai kemampuan untuk meningkatkan permeabilitas membran sel. Saponin berfungsi untuk meningkatkan permeabilitas membran sel, sekaligus menunjukkan sifat antibakteri melalui koagulasi protoplasma bakteri, sehingga menghasilkan pembentukan koneksi stabil dengan protein bakteri (Wijaya, 2020).

Berdasarkan temuan yang disajikan pada Tabel 5.1, terlihat bahwa peningkatan konsentrasi terapi berkorelasi dengan peningkatan rata-rata lebar zona hambat yang tercipta, menunjukan hasil lemah sampai sedang dan jauh dari kontrol positif yang menunjukan adanya zona hambat yang kuat. Hasil penelitian ini tidak

sesuai dengan yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan oleh Nasri (2022). dimana disana menyebutkan bahwa ekstrak daun alpukat pad konsentrasi (mg/mL) 3,125 adalah 6,73mm, pada konsentrasi 6,25 zona hambatnya 7,47mm, pada konsentrasi 12,5 zona hambatnya 7,83mm, pada konsentrasi 25 terdapat zona hambat 8,17 mm, konsentrasi 50 terdapat zona hambat 8,97mm, pada konsentrasi 100 adalah 9,67mm, konsentrasi 250 terdapat zona hambat 10,40mm, dan pada konsentrasi 500 adalah 10,87mm (Nasri *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil penelitian Purnomo dan Azzahra (2021), ekstrak daun alpukat terbukti berkhasiat menghambat perkembangan bakteri Pseudomonas aeruginosa. Ukuran zona hambat yang diamati diukur pada berbagai konsentrasi zat yang diteliti. Untuk lebih spesifiknya, diameter zona hambat ditentukan sebesar 5,68 milimeter pada konsentrasi 2%. Demikian pula ketika konsentrasi dinaikkan menjadi 4%, diameter zona hambat bertambah menjadi 6,16 milimeter. Pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 6%, diameter zona hambat semakin meningkat menjadi 6,65 mm. Selain itu, ketika konsentrasi mencapai 8%, diameter zona hambat ditentukan sebesar 7,55 mm. Pada akhirnya, ketika konsentrasi mencapai 10%, diameter zona hambat menunjukkan pengurangan menjadi 6,41 mm (Purnomo & Azzahra, 2021).

Hasil penelitian ini menunjukkan hasil yang relatif berkurang jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, karena hasil yang diperoleh dalam penelitian ini termasuk dalam spektrum rendah hingga sedang, sedangkan penelitian sebelumnya mendokumentasikan hasil dalam spektrum sedang hingga kuat. Adapun beberapa faktor yang menyebabkan zona hambat yang terbentuk lebih rendah dari penelitian sebelumnya antara lain: metode penelitian digunakan, lama

waktu maserasi, bahan yang digunakan, kekeruhan suspensi bakteri, temperatur inkubasi.

Penelitian ini menggunakan metodologi yang berbeda dengan penelitian sebelumnya. Dalam penelitian sebelumnya, pendekatan difusi sumur digunakan, namun metode difusi cakram digunakan untuk penyelidikan khusus ini. Karena penggunaan sumur sebagai lokasi sampel mempunyai potensi untuk mengembangkan proses osmosis yang lebih konsisten dan efektif, metodologi ini dipilih karena alasan tersebut. Hasilnya, bentuk difusi cakram ini dipandang lebih berhasil dalam mencegah perkembangan mikroorganisme (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020)

Lamanya maserasi, cara pengeringan, dan lama ekstraksi semuanya mempunyai pengaruh. Kelarutan zat dalam etanol umumnya berkurang setelah saturasi tercapai setelah berakhirnya durasi optimal. Disarankan untuk membatasi durasi ekstraksi maserasi maksimal tiga hari. Namun, dalam penelitian yang dilakukan, prosedur ekstraksi maserasi diperpanjang hingga lima hari (Ghail *et al.*, 2019).

Bahan yang dipakai, pada peneliti sebelumnya menggunakan etanol 96% pro analisa karena etanol ini dinilai memiliki kualitas yang baik. sedangkan pada penelitian yang dilakukan ini menggunakan etanol 96% yang menggunakan botol plastik yang bisa jadi banyak cammpuran airnya.

Terdapat hubungan terbalik antara kekeruhan suspensi bakteri dan ukuran zona hambat yang dihasilkan. Suspensi dengan kekeruhan yang lebih tinggi akan menghasilkan zona hambat yang lebih luas, namun larutan dengan kekeruhan yang lebih tinggi akan menghasilkan zona hambat dengan diameter yang lebih kecil.

Untuk mendapatkan pengukuran kekeruhan suspensi yang lebih tepat, disarankan menggunakan nefelometer atau spektrofotometer UV-Vis. Dibandingkan dengan teknik kekeruhan Mc, teknik ini memungkinkan pembacaan yang lebih tepat mengenai derajat kekeruhan suspensi bakteri. Istilah "Farland" mengacu pada lokasi atau wilayah geografis tertentu. Namun demikian, penelitian ini hanya dilakukan melalui sarana visual karena keterbatasan peralatan dan variabilitas persepsi pada mata individu (Meilaningrum, Putri and Sastyarina, 2021)

Diameter zona hambat yang tercipta mungkin dipengaruhi oleh suhu inkubasi. Untuk mencapai perkembangan yang maksimal, inkubasi dilakukan pada suhu 35°C. Ketika diinkubasi pada suhu di bawah 35°C, zona hambat akan terlihat lebih lebar. Sebaliknya, suhu melebihi 35°C mungkin menyebabkan difusi ekstrak tidak memadai. Suhu yang digunakan pada penelitian ini adalah 37°C (Zeniusa *et al.*, 2019).



#### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk pada dosis berbeda dinilai kurang memadai.

#### 6.2 Saran

#### 6.2.1 Bagi Institusi Pendidikan

Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk memberikan kontribusi berharga kepada komunitas ilmiah dengan meneliti potensi efek antibakteri ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) dalam penghambatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil yang diantisipasi dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan berharga bagi siswa yang ingin meningkatkan pemahaman mereka dan memperluas sumber pengetahuan mereka dalam disiplin ilmu tertentu.

### 1 6.2.2 Bagi Peneliti Selanjutnya

Diharapkan bagi peneliti selanjutnya untuk lebih memajukan penelitian ini terletak pada penggunaan beragam metodologi penelitian dan penggabungan pelarut pro-analisis. Pendekatan ini akan memungkinkan penentuan komposisi zat aktif secara lebih tepat, khususnya kemampuan antibakterinya.

# 6.2.3 Bagi Masyarakat Diharapkan kepada masyarakan agar lebih menjaga kebersihan diri dan kebersihan lingkungan demi menjaga kesehatan diri dan orang lain sebagai upaya terhindar dari penyebaran bakteri dan diharapkan agar masyarakat bijak dalam penggunaan antibiotik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Adheline, G.D. (2019) 'Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Sebagai Alternatif Antibiotik Infeksi Nosokomial Yang Disebabkan Oleh *Pseudomonas* aeruginosa', Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan, 6(3), pp. 242–246.
- Anggorowati, D., Priandini, G. and Thufail (2016) 'Potensi daun alpukat (persea americana miller) sebagai minuman teh herbal yang kaya antioksidan', *Industri Inovatif*, 6(1), pp. 1–7.
- Anjas Wilapangga, S.S. (2018) 'Analisis Antibakteri Metode Agar Cakram Dan Uji Toksisitas Menggunakan Bslt (Brine Shrimp Lethality Test)', 2.
- Armiati, H. and Arisanti, P. (2021) 'Effectiveness of single garlic extract (Allium sativum L) in inhibiting the development of pseudomonas aeruginosa bacteria in the root canal of the tooth: Efektivitas ekstrak bawang putih tunggal (Allium sativum L) dalam menghambat perkembangan bakteri Ps', *Makassar Dental Journal*, 10(1), pp. 72–76. Available at: https://doi.org/10.35856/mdj.v10i1.391.
- Azzahra, F., Almalik, E.A. and Sari, A.A. (2019) 'Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap Bakteri Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus Antibacterial Activity Of Ethanol Extract Of Avocado (*Persea americana Mill*) Leaf Against Salmonella typhi', pp. 1–10.
- Bakteri, L.P., Nurhabiba, S. and Wulan, W. (2020) 'INDONESIAN FUNDAMENTAL', 6(1), pp. 16–26.
- Bonggol, A. (2018) 'Musa cuminata × balbisiana )', XXXIV(4).
- Chairunnisa, S. *et al.* (2019) 'Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (Ziziphus mauritiana L.) sebagai Sumber Saponin', 7(4), pp. 551–560.
- Endah, S.R.N. (2017) 'PEMBUATAN EKSTRAK ETANOL DAN PENAPISAN FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG SINTOK 12 nnamomun sintoc Bl.)', *Jurnal Hexagro*, 1(2), pp. 29–35. Available at: https://doi.org/10.36423/hexagro.v1i2.95.
- Faradina, A.S., Mastra, N. and Wayan Karta, I. (2019) 'UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL AKAR ENCOK (Plumbago zeylanica L.) TERHADAP PERTUMBUHAN Pseudomonas aeruginosa SECARA IN VITRO', 7(2), pp. 110–118. Available at: http://ejournal.poltekkesdenpasar.ac.id/index.php/M.
- Fitriana, Y.A.N., Fatimah, V.A.N. and Fitri, A.S. (2020) 'Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum)', *Sainteks*, 16(2), pp. 101–108. Available at: https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126.
- Gabriella E.C. Alouw1)\*,2022 Fatimawali2), J.S.L. (2022) 'Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extraction From Jamaican', 5(1), pp. 36–44.
- Hasrianti, Nururrahmah, N. (2016) 'View metadata, citation and similar papers at

- core.ac.uk', (April), pp. 9–30.
- Hazmi, G.G. Al and Harijono, H. (2019) 'Pengaruh Pengeringan Dan Lama Maserasi Dengan Pelarut Ganda Etanol Dan Heksana Terhadap Senyawa Bioaktif Daging Biji Palem Putri (Veitchia Merillii)', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 7(2), pp. 13–23. Available at: https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2019.007.02.2.
- I Gusti Ayu Mas Putri Dharmayanti1 Dewa Made Sukrama2 (2019) 'Islayana', *The Encyclopedia of Philosophy of Religion*, 8(4), pp. 1–3. Available at: https://doi.org/10.1002/9781119009924.eopr0398.
- Ikuta, K.S. *et al.* (2022) 'Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019', *The Lancet*, 400(10369), pp. 2221–2248. Available at: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02185-7.
- oan, K. et al. (2021) 'Jurnal Kesehatan Perintis', 8(2), pp. 121-127.
- Irawati, N.A.V. (2015) 'Antihypertensive Effects Of Avocado Leaf Extract (Persea americana mill)', *Majority*, 4<sub>19</sub>p. 44–48.
- Jayusman, O.A.K.S. (2020) 'Jurnal Artefak Vol.7 No.1 April 2020 https://jurnal.unigal.ac.id/index.php/artefak', 7(1), pp. 13–20.
- Leyana, M. (2021) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Kasarı aun Johar (Cassia siamea L.)
  Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa', *JFMR-Journa* 16 *f Fisheries and Marine Research*, 5(1), pp. 8–14. Available at: https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2021.005.01.2.
- Magani, A.K., Tallei, T.E. and Kolondam, B.J. (2020) 'Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli.', *Jurnal Bios Logos*, 10(1), p. 7. Available at: https://doi.ofis10.35799/jbl.10.1.2020.27978.
- Makopa, M. et al. (2020) 'Antibacterial, Antifungal, and Antidiabetic Effects of Leaf Extracts from Persea americana Mill. (Lauraceae)', *Biochemistry Research*11 International, 2020. Available at: https://doi.org/10.1155/2020/8884300.
- Marsigit, W. (2016) 'Morphometric Characteristics, Proportition, Total Fenol Content And Profil Phenolics Of Avocado (Persea americana, mill) Pulp, See and Peel Variety Of Ijo Panjang And Ijo Bundar', *Jurnal Agroindustri*, 6(1), pp. 18–27. Available at: https://doi.org/10.31186/j.agroind.6.1.18-27.
- Meilaningrum, A.N., Putri, N.E.K. and Sastyarina, Y. (2021) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kombinasi Umbi Bawang Tiwai dan Kulit Buah Lemon Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli', *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 13(April 2021), pp. 8–13. Available at: http2//doi.org/10.25026/mpc.v13i1.436.
- Nasri, N. et al. (2022) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill.) Terhadap Escherichia coli, Salmonella typhi, dan
   Pseudomonas aeruginosa', Herbal Medicine, 5(1), pp. 13–19.
- Nurhayati, L.S., Yahdiyani, N. and Hidayatulloh, A. (2020) 'Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram', *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), p. 41. Available at: https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537.
- Prasetyo, M.H. and Hasyim (2022) 'Nusantara Hasana Journal', Nusantara Hasana

- Journal, 1(11), pp. 22–32. Available at: http://nusantarahasanajournal.com/index.php/nhj/article/view/279.
- Prayitno, I., Saroyobudiyon, H. and Indrayudha, P. (2019) 'Uji Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Aseton Kulit Batang Shorea acuminatissima terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa Meltiresisten antibiotik', *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*, 2(1), p. 1. Available at: https://doi.gg/10.37013/jf.v2i1.14.
- Putu, N. *et al.* (2021) 'Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr)', 10(1), pp. 1–12.
- Rosidah, I. *et al.* (2017) 'Optimasi Kondisi Ekstraksi Senyawa Total Fenolik Buah Labu Siam ( Sechium edule ( Jacq .) Sw .) Menggunakan Response Surface Methodology', pp. 79–88.
- Rundengan, C.H., Fatimawali and Simbala, H. (2017) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Biji Pinang Yaki (Areca Vestiaria) Terhadap Bakteri Stapyhlococcus Aureus, Escherichia Coli, Pseudomonas Aeruginosa', *Pharmacon*, 6(1), pp. 37–44.
- sari Rafika, Apridamayanti, P. and Pratiwi, L. (2022) 'Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (Melasthoma malabathricum)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik', *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 7(2), pp. 105–114. Available at: https://doi.org/10.21776/ub.pji.2022.007.02.5.
- Seko, M., Sabuna, A.C. and Ngginak, J. (2021) 'Ajeran Leaves Ethanol Extract (Bidens pilosa L) As An Antibacterial Staphylococcus aureus', *Jurnal Biosains*, 7(1), p. 1. Available at: https://doi.org/10.24114/jbio.v7i1.22671.
- Shafira, L.M., Ethica, N.S. and Ernanto, R.A. (2022) 'Deteksi Pseudomonas Aeruginosa Isolat Pus Luka Berbasis Polymerase Chain Reaction Menggunakan Gen Algd Detection Of Pseudomonas aeruginosa BASED ON POLYMERASE CHAIN REACTION USING THE algD GENE IN WOUND PUS ISOLATE', pp. 795–806.
- Sinuraya, T.S.., Yoswaty, D. and Nursyirwani (2019) 'Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak Sinularia sp. terhadap Bakteri Patogen (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, dan Pseudomonas aeruginosa', *Jurnal Universitas Riau*, pp. 1–10.
- siti Faiqotululya, sukestiyarno, putriaji, 2018 (2018) 'RANDOM SAMPLING CONFIDENCE INTERVATE, 7(1), pp. 108–119.
- Verti, E.A., Mustikarini, E.D. and Lestari, T. (2021) 'Diversity of Avocado Germplasm (Persea americana) in Bangka Island Based On Morphological Character', Seminar Nasional dan Pengabdian pada Masyarakat 2021, pp. 33–38. Available 17 at: https://www.journal.ubb.ac.id/index.php/snppm/article/view/2686%0Ahttps://www.journal.ubb.ac.id/index.php/snppm/article/download/2686/1568.
- WHO (2020) 'Bactericidal Effects of Extract Basil Leaves in In-vitro Study of Pseudomonas aeruginosa', 03(02), pp. 102–105. Available at: https://doi.org/10.20473/bhsj.v3i2.22090.

- Wijaya, I. (2020) 'Potensi Daun Alpukat Sebagai Antibakteri', *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), pp. 695–701. Available at: https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.381.
- Yogaswara Purnomo, H. and Azzahra, F. (2021) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Alpukat (Persea americana Mill.) Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa', *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, pp. 7–14. Available at: https://doi.org/10.37079/jofar.vi0.102.
- Zeniusa, P. *et al.* (2019) 'Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap Escherichia coli Secara In Vitro', *Majority*, 8(2), pp. 136–143.

## Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Alpukat (Persen americana miller) Terhadap Bakteri Pseudomonas aeruginosa

		iler) Ternadap Ba	akteri Pseudor	nonas aeri	uginosa
ORIGIN	IALITY REPORT				
SIMIL	4% ARITY INDEX	% INTERNET SOURCES	% PUBLICATIONS	14% STUDENT P	APERS
PRIMAF	RY SOURCES				
1		ed to Forum Pe ndonesia Jawa T	•	erguruan	4%
2		ed to Badan PP: erian Kesehatar		ın	2%
3	Submitt Student Pape	ed to Sriwijaya I	Jniversity		1%
4	Submitt Student Pape	ed to UIN Syarif	<sup>F</sup> Hidayatullah	Jakarta	1%
5	Submitt Student Pape	ed to Technolog	jical University	<sup>,</sup> Dublin	1%
6	Submitt Student Pape	ed to Universita	s Esa Unggul		<1%
7	Submitt Student Pape	ed to Sultan Agı	ung Islamic Ur	niversity	<1%
8	Submitt Surakar Student Pape		s Muhammad	iyah	<1%

9	Submitted to Universitas Pamulang Student Paper	<1%
10	Submitted to Lambung Mangkurat University Student Paper	<1%
11	Submitted to Free University of Bolzano Student Paper	<1%
12	Submitted to Syiah Kuala University Student Paper	<1%
13	Submitted to Politeknik Negeri Lampung Student Paper	<1%
14	Submitted to Universitas Diponegoro  Student Paper	<1%
15	Submitted to Universitas Pendidikan Ganesha Student Paper	<1%
16	Submitted to University of Sydney Student Paper	<1%
17	Submitted to itera  Student Paper	<1%
18	Submitted to Angeles University Foundation Student Paper	<1%
19	Submitted to STIE Perbanas Surabaya Student Paper	<1%
20	Submitted to Thomas Hassall Anglican College	<1%

21	Submitted to Universitas Islam Riau Student Paper	<1%
22	Submitted to iGroup Student Paper	<1%
23	Submitted to UPN Veteran Jakarta Student Paper	<1%
24	Submitted to Universitas Islam Negeri Student Paper	<1%
25	Submitted to Universitas Muhammadiyah Sidoarjo Student Paper	<1%
26	Submitted to Walters State Community College Student Paper	<1%
27	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	<1%
28	Submitted to Universitas Jenderal Achmad Yani Student Paper	<1%
29	Submitted to Universitas Jenderal Soedirman Student Paper	<1%
30	Submitted to University of Zagreb Faculty of Science Student Paper	<1%

Exclude quotes Off
Exclude bibliography Off

Exclude matches

Off