

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Buah Nanas

1. Sistematika Tumbuhan

Klasifikasi tanaman nanas menurut Joni ardi (2019) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyte
Kelas	: Angiospermae
Sub kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Farinosae
Family	: <i>Bromeliaceae</i>
Genus	: <i>Ananas</i> .
Spesies	: <i>Ananas comosus</i> (L) Merr.



Gambar 1. Buah Nanas (Dokumentasi Pribadi)

2. Morfologi Tumbuhan

Ananas comosus (L) Merr adalah tanaman yang berasal dari Brazil, Argentina, dan Peru, dan menghasilkan buah majemuk yang terdiri dari 100 hingga 200 bunga, buah nanas berbentuk bulat telur, memiliki kulit yang diselubungi oleh duri kecil, memiliki bentuk, warna, dan rasa yang beragam tergantung varietasnya (Reiza *et al.*,2019)

Daun nanas memiliki bentuk panjang seperti pedang dengan pangkal membulat dan permukaan licin dengan tulang anak daun yang lurus. Ada duri di pinggir daun (Ardi *et al.*,2019).

3. Kandungan Kimia Tumbuhan

Terdapat senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin dalam ekstrak etanol kulit nanas (Reiza *et al.*,2019). Kandungan flavonoid bekerja membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, merusak membrane sel bakteri, setelahnya senyawa intraseluler dikeluarkan dari bakteri (Nuria *et al.*, 2009). Alkaloid bertindak dengan mengganggu bagian penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri, menyebabkan pembentukan lapisan dinding sel yang tidak sempurna dan kematian sel (Gultom, *et al.* 2020). Tanin, sebagai antibakteri bekerja dengan menyerang dinding polipeptida sel bakteri, menyebabkan pembentukan tidak sempurna pada dinding sel bakteri, yang pada akhirnya menyebabkan sel bakteri mati (Sapara, *et al.* 2016). Saponin berinteraksi dengan sel bakteri dan merusak permeabilitas sel, menyebabkan bakteri lisis (Sapara *et al.*,2016).

4. Aktivitas Antibakteri

Kandungan zat aktif flavonoid, enzim bromealin, dan vitamin C yang diketahui sebagai antibakteri sangat tinggi dalam kulit nanas (Rini 2016). Kandungan flavonoid bekerja membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, merusak membrane sel bakteri, setelahnya senyawa intraseluler dikeluarkan dari bakteri (Nuria *et al.*, 2009).

B. Daun Alpukat

1. Sistematika Tumbuhan

Klasifikasi tanaman alpukat menurut Yuliana, D. (2021) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Laurales
Family	: <i>Lauraceae</i>
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.



Gambar 2. Daun Alpukat (Dokumentasi Pribadi)

2. Morfologi Tumbuhan

Tanaman alpukat memiliki tinggi 3-10 m, dan ranting yang tegak, batang berkayu, dilapisi kulit berwarna coklat, dan bercabang banyak (Yuliana, 2021). Daun alpukat saat masih muda berwarna kemerahan. Ketika daun mulai tua, warna daun menjadi hijau gelap. Memiliki bentuk yang bervariasi seperti lonjong, bulat, oval, dan lancip. Bunga alpukat berbentuk malai dan berwarna kuning kehijauan tumbuh dekat ujung ranting. Buah alpukat yang berbentuk bulat seperti lampu, berwarna hijau atau hijau kekuningan, dengan satu biji bulat (Felistiani, V. 2017).

3. Kandungan Kimia Tumbuhan

Senyawa kimia yang bermanfaat untuk pengobatan yang ditemukan dalam daun alpukat adalah alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin (Yanis *et al.*, 2021).

4. Aktivitas Antibakteri

Kandungan dalam daun alpukat dapat menurunkan tekanan darah dan kadar asam urat, berperan sebagai antioksidan dan sebagai antibakteri, serta dapat digunakan untuk membuat krim anti jerawat (Arwanda *et al.*, 2021). Alkaloid dalam daun alpukat bertindak dengan mengganggu bagian penyusun peptidoglikan dalam sel bakteri, menyebabkan pembentukan lapisan dinding sel yang tidak sempurna dan kematian sel (Gultom, *et al.*, 2020). Tanin, sebagai antibakteri bekerja dengan menyerang dinding polipeptida sel bakteri, menyebabkan pembentukan tidak sempurna pada dinding sel bakteri, yang pada akhirnya menyebabkan sel bakteri mati (Sapara *et al.*, 2016).

Saponin berinteraksi dengan sel bakteri dan merusak permeabilitas sel, menyebabkan bakteri lisis (Sapara *et al.*, 2016).

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang dimanfaatkan untuk pengobatan yang belum mengalami proses pengolahan apapun, dan dinyatakan lain berupa bahan alam yang telah dikeringkan. Mengeringkan bahan alam dapat dilakukan dengan menjemurnya di bawah sinar matahari langsung, dengan angin-angin, atau dengan oven; kecuali dinyatakan lain, suhu pengeringan oven tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI, 2017).

D. Penyarian

1. Ekstraksi

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diekstraksi. Ekstraksi adalah proses pemisahan zat aktif dari suatu campuran dengan menggunakan pelarut yang tepat (Mukhriani, 2014).

Proses penyarian dapat digolongkan menjadi penyarian cara dingin dan cara panas. Salah satu metode penyarian dengan cara dingin adalah metode maserasi. Metode maserasi merupakan metode paling sederhana dan paling banyak digunakan, maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia kedalam cairan penyari dengan beberapa kali penggojokan, dan disimpan pada suhu kamar. Maserasi digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang mengandung bahan aktif yang mudah larut dalam pelarut (Dirjen POM, 2014).

2. Pelarut

Senyawa yang berada di dalam tanaman dapat ditarik oleh pelarut saat ekstraksi. Pemilihan pelarut yang tepat merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Proses ekstraksi digunakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terdapat di dalam simplisia (Depkes RI, 2008).

Selama proses ekstraksi, pilihan pelarut didasarkan pada polaritas zat dalam pelarut selama proses ekstraksi. Senyawa non-polar hanya dapat larut dalam pelarut non-polar seperti eter, kloroform, dan n-heksana. Sebaliknya, senyawa polar dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, metanol, dan air (Agustien *et al.*, 2022).

Etanol dapat menarik lebih banyak bahan aktif, dibandingkan dengan pelarut organik lainnya. Titik didih yang rendah (79°C) pada etanol, saat proses pemekatan hanya membutuhkan panas yang sedikit. Toksisitas etanol yang lebih rendah daripada pelarut lainnya, sehingga etanol dianggap aman untuk dikonsumsi. Penggunaan etanol 70% karena senyawa flavonoid umumnya bersifat polar, oleh karena itu harus dilarutkan dalam pelarut polar, dan etanol 70% adalah pelarut polar (Hasanah *et al.*, 2020).

E. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara untuk memisahkan komponen-komponen berdasarkan perbedaan tingkat interaksi dari dua fasa bahan pemisah. KLT adalah proses pemisahan fisik-kimia yang menggunakan lapisan pemisahan dalam bentuk lapisan tipis serbuk halus yang diletakkan secara merata pada lempeng kaca, plastik, atau logam. Lapisan ini kemudian diletakkan pada penyangga seperti gelas, kaca, logam, atau lapisan yang sesuai (fase diam). Lapisan fase diam diletakkan di dalam wadah tertutup rapat yang berisi larutan fase gerak yang sesuai. KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa secara kualitatif dalam suatu campuran dengan membandingkan nilai R_f standar acuan, atau baku pembanding, dengan nilai R_f sampel (Husna *et al.*, 2020).

Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan berulang kali dengan beberapa eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda, untuk menghasilkan pelarut yang memiliki pemisahan dan noda zat warna yang baik. Bercak pada plat KLT dapat diamati di bawah lampu ultraviolet 254 nm dan ultraviolet 366 nm. Golongan senyawa ditentukan dalam uji KLT dengan cara menyemprotkan beberapa reagen ke plat KLT. Uji senyawa kimia dari ekstrak meliputi senyawa alkaloid, fenol, terpenoid, dan flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendorff, FeCl_3 , dan vanilin asam sulfat (Alen *et al.*, 2017).

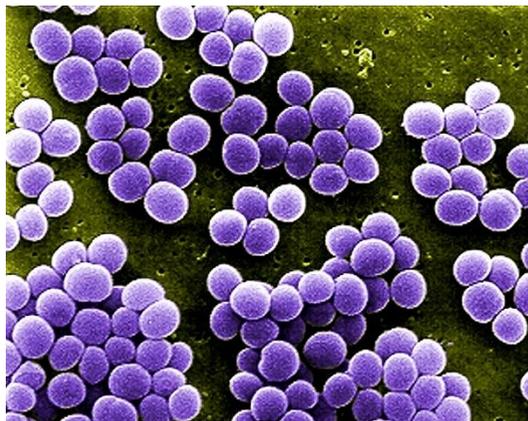
Perkiraan hasil identifikasi diperoleh dengan mengamati bercak titik-titik pada lempeng dengan nilai R_f yang sama dan ukuran yang hampir sama. Perbandingan visual ukuran bercak dapat digunakan untuk memperkirakan kadar secara semi-kuantitatif (Depkes RI 2008).

F. Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Tammi (2015) :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>



Gambar 3. Bakteri *Staphylococcus aureus* (Janice Haney Carr, *et al*)

2. Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus*

S. aureus adalah bakteri dari keluarga *Staphylococcus*, merupakan bakteri Gram positif yang berdiameter 0,5 hingga 1,0 mm, berbentuk bulat bergerombol seperti anggur. *S. aureus* bersifat tidak motil, tidak menghasilkan spora, bersifat anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif (Dewi, 2013).

Bakteri Gram positif berwarna ungu karena kristal ungu dan kompleks pewarna yodium. Dinding sel luar bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan tebal tanpa lapisan lipoprotein atau lipopolisakarida (Karimela *et al.*, 2017).

Koloni dalam cawan agar berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, cembung, buram, dan mengkilat. Memiliki warna kuning keemasan yang khas dan bervariasi dalam intensitasnya. Koloni pada lempeng agar darah biasanya lebih besar dan pada beberapa varietas koloni dikelilingi oleh zona hemodialis (Tammi, 2018).

Enzim katalase berperan penting dalam kelangsungan hidup mikroorganisme. *Staphylococcus* sp menggunakan katalase untuk melindunginya dari hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan mengubahnya menjadi air dan oksigen. Uji katalase positif *S. aureus* akan terbentuk gelembung gas di dalam tabung yang dihasilkan oleh genus *Staphylococcus*. Uji katalase digunakan untuk membedakan kelompok bakteri tertentu, uji katalase untuk bakteri *S. aureus* digunakan untuk membedakan antara *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Karimela *et al.*, 2017).

3. Patogenesis

Bakteri *S. aureus* adalah salah satu bakteri penyebab infeksi paling banyak. Bakteri *S. aureus* merupakan flora normal yang dapat ditemukan di kulit manusia, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan, serta di udara dan lingkungan sekitar. Tingkat keparahan dari infeksi bakteri *S. aureus* bervariasi dari infeksi kulit ringan (furunculosis dan impetigo), infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan hingga infeksi pada mata dan sistem saraf pusat. Infeksi *S. aureus* yang parah dapat terjadi ketika sistem kekebalan tubuh melemah karena perubahan hormonal, penyakit, luka, penggunaan steroid atau obat lain yang mempengaruhi kekebalan tubuh (Rahmadani *et al.*, 2017).

Bakteri *S. aureus* biasanya ada di permukaan kulit dan hidung manusia. Bakteri dapat menginfeksi lapisan kulit yang terluka akibat gesekan, goresan, atau penyakit kulit lainnya. Bakteri ini bahkan dapat masuk ke pembuluh darah dan menginfeksi banyak organ dalam tubuh. Abses, selulitis, dan impetigo, contoh infeksi *S. aureus* pada kulit. *S. aureus* dapat menyebar melalui luka dan kontak langsung atau tidak langsung, seperti dengan handuk, pakaian, atau peralatan olahraga yang digunakan bersama (Hanina *et al.*, 2022).

4. Pengobatan

Isolat *S. aureus* memiliki sensitivitas yang baik terhadap antibiotik golongan klindamisin, kloramfenikol dan vankomisin; dan resisten terhadap penisilin, ampisilin, tetrasiklin dan cefotaxime. Dalam literatur, pengobatan pilihan utama untuk *S. aureus* adalah golongan penicillinase-resistant penicillin (methicillin, nafcillin, oxacillin, dicloxacillin) dan obat pilihan alternatifnya golongan aminopenicillin dengan tambahan penghambat β -laktamase (ampisilin + sulbaktam), (amoksisilin + klavulan). Jika mikroorganisme resisten terhadap

methicillin, antibiotik golongan vankomisin dapat digunakan. Karena β -laktamase dapat menghidrolisis ampicilin, disarankan untuk menambahkan penghambat β -laktamase agar lebih efektif melawan *S. aureus*. Terapi yang dapat diberikan yaitu cefazolin, sefalotin, vankomisin, amoksisilin/asam klavulanat, gentamisin, eritromisin, dan klindamisin. Untuk methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) endemik lokal dapat digunakan vankomisin atau doksisisiklin. Eritromisin, klindamisin atau vankomisin diberikan jika alergi terhadap penisilin. Antibiotik spektrum luas sangat efektif melawan bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus* dan *Streptococcus viridans* contohnya antibiotik golongan makrolida. Antibiotik tersebut juga dapat melawan bakteri gram negatif, beberapa anaerob, dan beberapa spesies mikoplasma. Pasien yang hipersensitif terhadap penisilin atau sefalosporin, antibiotik golongan makrolida juga dapat digunakan untuk pengobatan infeksi jaringan lunak (Rosalina *et al.*, 2010).

G. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang di pergunakan untuk mencegah pertumbuhan bakteri berbahaya. Tujuan pengendalian pertumbuhan mikroba adalah untuk menghindari penyakit dan infeksi menyebar (Spartono *et al.*, 2016).

Antibakteri dalam klasifikasinya dikenal dengan antibiotik dan antiseptik. Antibiotik adalah zat kimia yang berasal dari jamur dan bakteri yang telah dilemahkan. Antibiotik tidak merusak sel jaringan manusia, berbeda dengan efek antiseptik yang tidak membedakan antara jaringan tubuh dan mikroorganisme (Yuliana, 2021).

Mekanisme antibakteri adalah obat merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah protein dan molekul asam nukleat, dan menghentikan aktivitas enzim yang dapat mencegah pembentukan asam nukleat dan protein bakteri (Seko *et al.*, 2021).

H. Media

Media pertumbuhan merupakan tempat pertumbuhan mikroorganisme biasanya mengandung nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk hidup. Beberapa jenis bakteri dapat hidup dalam lingkungan yang sangat sederhana yang hanya terdiri dari garam anorganik dan sumber karbon organik seperti gula, tetapi beberapa jenis bakteri membutuhkan lingkungan yang sangat kompleks yang

tidak hanya mengandung sumber karbon dan nitrogen tetapi juga memerlukan darah atau bahan kompleks lainnya. Kebutuhan dasar makhluk hidup harus dipenuhi oleh nutrisi lingkungan (Juariah *et al.*, 2021).

Media pertumbuhan mikroorganismenya harus memenuhi kebutuhan nutrisi mikroorganismenya, seperti karbon dan nitrogen; unsur logam seperti Ca, Zinc, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe; vitamin; air; dan energi. Beberapa faktor fisika dan kimiawi dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganismenya pada media buatan. pH dan suhu adalah faktor fisik, dan nutrisi yang ada pada media pertumbuhan adalah faktor kimiawi (Supriatin *et al.*, 2016).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan teknik yang digunakan untuk mengukur seberapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat mempengaruhi mikroorganismenya berdasarkan kekuatan aktivitas antibakteri dari diameter zona hambat yang terbentuk (Sari *et al.*, 2022).

1. Difusi

Metode difusi cakram merupakan metode dengan mengukur area bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram untuk mengukur aktivitas antibakteri. Zona bening terbentuk pada permukaan media agar disekitar kertas cakram menunjukkan parameter pengujian daya hambat bakteri. Keuntungan metode difusi cakram adalah proses pengujiannya cepat, sederhana, dan murah, dan tidak membutuhkan keahlian khusus. Metode difusi cakram memiliki kelemahan, yaitu sulit digunakan pada mikroorganismenya dengan pertumbuhan lambat. Kondisi inkubasi, inokulum, dan ketebalan substrat memengaruhi zona bening yang dihasilkan (Intan *et al.*, 2021).

2. Dilusi

Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) diukur dalam metode dilusi untuk menentukan potensi suatu senyawa terhadap aktivitas mikroba (Fatisa Y, 2013).

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) digunakan sebagai ukuran. Ada dua metode dilusi: dilusi cair (broth dilution) dan dilusi padat (solid dilution). Metode dilusi cair biasanya digunakan untuk menghitung KHM, sedangkan metode pengenceran padat digunakan untuk menghitung KBM.

Keuntungan dari metode dilusi adalah beberapa mikroorganisme uji dapat diuji pada satu titik konsentrasi (Sari *et al.*, 2022).

J. Kombinasi Antibakteri

1. Pengertian Efek Kombinasi Antibakteri

Kombinasi obat adalah ketika dua obat digunakan secara bersamaan dengan cara yang memungkinkan efek masing-masing obat saling mempengaruhi. Kombinasi antibakteri dapat digunakan untuk mengobati infeksi bakteri. Diharapkan kombinasi tersebut dapat mencapai hasil yang sinergis, oleh karena itu perlu dicari terapi alternatif yang lebih aman dengan menggabungkan agen antibakteri dan diyakini memiliki efek sinergis (Aiyegoro dan Okoh, 2009).

2. Jenis Efek Kombinasi Antibakteri

2.1 Aditif. Merupakan efek kombinasi dari dua senyawa yang digabungkan memiliki efek penghambat yang bersama dengan efek penghambatan masing-masing senyawa (Choirunnisa dan Sutjiatmo, 2017). Efek aditif terjadi jika kombinasi ekstrak hanya memiliki pengaruh peningkatan efek dari salah satu ekstrak tunggalnya (Saputri *et al.*, 2022).

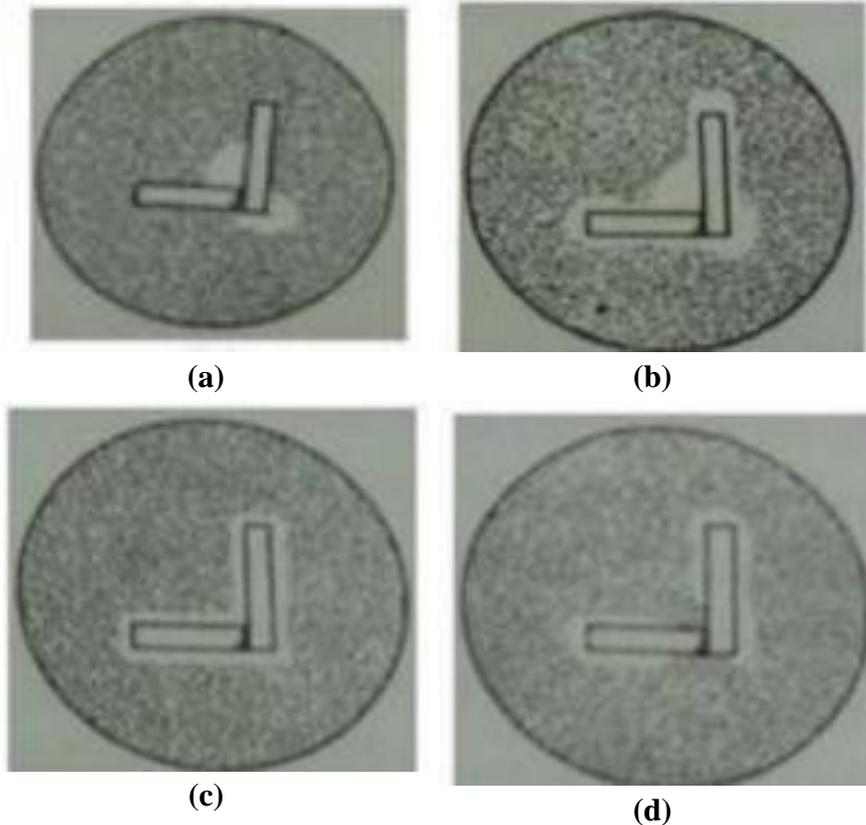
2.2 Sinergis. Merupakan interaksi positif di mana dua senyawa bekerja sama memberikan efek penghambatan yang lebih besar daripada jumlah efek masing-masing (Blesson *et al.*, 2015). Efek sinergis ekstrak adalah ketika efek biologis dari kombinasi lebih besar daripada efek biologis ekstrak tunggal (Saputri *et al.*, 2022).

2.3 Antagonis. Merupakan keadaan mengganggu atau menghambat kerja satu sama lain, atau zat kimia mengganggu zat kimia lain jika ditambahkan atau digabungkan (Putri *et al.*, 2017). Efek antagonis adalah Ketika campuran senyawa memiliki efek yang lebih rendah daripada senyawa individu atau tunggalnya (Rahayu *et al.*, 2019).

3. Metode Pengujian Kombinasi Antibakteri

3.1 Metode Papan Catur (*Checkerboard*). Metode checkerboard adalah metode dilusi cair yang digunakan pada microplate 96 wells untuk melihat bagaimana suatu senyawa antimikroba bekerja sama dengan senyawa antimikroba lainnya untuk menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (Martin., 2010). Kombinasi melibatkan satu antibiotik dan satu ekstrak uji (Choirunnisa dan Sutjiatmo., 2017).

3.2 Metode Pita Kertas. Pola interaksi dapat diamati secara visual ketika ekstrak uji dan antibiotik dicampur pada pita kertas, kemudian diletakkan di atas media agar yang telah dicampur dengan suspensi bakteri pada cawan petri (Choirunnisa dan Sutjiatmo., 2017).



Gambar 4. Hasil dari sifat kombinasi antibakteri adalah a. Sinergis, b. Sinergis, c. Aditif, d. Antagonis

K. Ciprofloxacin

Ciprofloxacin adalah antibiotik golongan kuinolon, berfungsi untuk mencegah sintesis DNA bakteri dengan menghentikan DNA topoisomerase II (juga dikenal sebagai DNA girase) dan DNA topoisomerase IV. Relaksasi DNA supercoiled positif yang diperlukan untuk transkripsi dan replikasi normal dihalangi oleh inkubasi DNA girase. Selama proses pembelahan sel, inhibisi topoisomerase IV menghentikan pemisahan kromosom DNA pasca replikasi (Sri dan Setyawati, 2016). Ciprofloxacin bersifat bakterisidal terhadap baik bakteri Gram-positif maupun negatif dengan menghambat aktivitas DNA gyrase bakteri. Ciprofloxacin dapat digunakan untuk mengobati infeksi saluran kemih, uretritis, demam tifoid dan paratifoid, infeksi

saluran napas, infeksi jaringan lunak, dan osteomyelitis (Rieuwpassa dan Hatta., 2009).

L. Landasan Teori

S. aureus adalah bakteri Gram positif patogen yang menyebabkan peningkatan jumlah penyakit dan kematian setiap tahunnya. Bakteri ini dapat ditemukan pada hidung dan kulit manusia, yang kemudian menyebabkan berbagai penyakit (Rianti *et al.*, 2022). Penyakit yang disebabkan bakteri *S. aureus* dapat diobati secara sistemik, yaitu dengan antibiotik. Antibiotik seperti klindamisin, kloramfenikol, dan vankomisin dapat digunakan untuk mengobati bakteri *S. aureus* (Rosalina *et al.*, 2010). Banyak terjadi kasus peningkatan resistensi antibiotik terhadap bakteri *S. aureus* yang menjadi masalah di bidang kesehatan. Dengan berkembangnya teknologi, bahan alam dapat digunakan sebagai alternatif untuk mencegah pertumbuhan *S. aureus*. Tumbuhan dengan manfaat kesehatan telah lama digunakan oleh masyarakat karena bukti empiris bahwa tumbuhan memiliki efek samping yang minimal dan lebih terjangkau karena ketersediaannya di alam yang siap untuk pakai (Wiharningtias., 2016).

Tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional contohnya tanaman nanas dan tanaman alpukat. Menurut penelitian Yolandari *et al.*, 2022 ekstrak etanol kulit buah nanas mempunyai efek antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Kulit nanas dan Daun alpukat mempunyai manfaat yang sama yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan dari kulit nanas dan daun alpukat tidak jauh berbeda, yaitu flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol kulit nanas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 50% dengan zona hambat sebesar 14,83 mm (Yolandari *et al.*, 2022), penelitian lain konsentrasi 6,25% dengan zona hambat sebesar 13,33 mm memiliki pertumbuhan penghambatan terbesar (Nofita *et al.*, 2018), penelitian sebelumnya pada konsentrasi 30% mampu menghambat *S. aureus* sebesar 19,3 mm (Waznah *et al.*, 2021), dan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 1,56% (Wiharningtias., 2016). Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun alpukat dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada

konsentrasi 100% dihasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 10,68 mm (Azzahra *et al.*, 2019), penelitian lain konsentrasi 20% memiliki aktivitas antibakteri yang paling kuat dengan zona hambat sebesar 10,43 mm (Usman dan Baharuddin, 2023), penelitian Andriani *et al.*, 2016 konsentrasi 35% memiliki aktivitas antibakteri paling kuat dengan zona hambat sebesar 12,45%, pada penelitian lain dihasilkan diameter daya hambat pada konsentrasi 0,5% sebesar 5,12 mm, 1% sebesar 6,23 mm, 3% sebesar 7,35 mm, 5% sebesar 8,58 mm dan 10% sebesar 9,47 mm (Sari *et al.*, 2016).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik bahan kimia atau zat aktif dari tanaman. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi berdasarkan pada kemampuan polaritas suatu pelarut yang bersifat sangat polar atau semi-polar sehingga dapat melarutkan berbagai komponen kimia yang terdapat dalam tanaman yang bersifat polar maupun non-polar. Etanol merupakan pelarut semi-polar, maka dari itu pelarut etanol memiliki kemampuan untuk menyari atau mengekstraksi zat aktif dari senyawa polar hingga non-polar (Handoyo, 2020).

Salah satu metode ekstraksi yang paling umum adalah maserasi, yang dilakukan dengan memasukkan pelarut dan serbuk tanaman yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat dan menyimpannya pada suhu kamar (Badaring *et al.*, 2020).

Etanol 70% dapat digunakan sebagai cairan penyari karena bersifat netral, kapang dan kuman sulit berkembang biak pada 20% etanol ke atas, tidak beracun, absorpsi baik, dan etanol dapat dicampur dengan air dalam berbagai perbandingan, sehingga menghasilkan jumlah senyawa aktif yang paling ideal, dan mengurangi jumlah panas yang diperlukan untuk pemekatan (Nuria *et al.*, 2009). Senyawa flavonoid biasanya dalam bentuk glikosida polar, sehingga harus dilarutkan dengan pelarut polar, dan etanol 70% adalah pelarut polar (Hasanah *et al.*, 2020).

Dalam penelitian ini, kulit buah nanas dan daun alpukat yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%, diharapkan dengan menggabungkan kedua tanaman akan meningkatkan kekuatan (efektivitas) antibakteri terhadap *S. aureus* daripada ekstrak tunggal tanaman.

Kombinasi antibakteri merupakan dua antibakteri yang digunakan secara bersamaan dan saling mempengaruhi kerja dari masing-masing antibakteri. Beberapa ekstrak tanaman yang

digabungkan memiliki daya hambat yang lebih besar daripada ekstrak tunggal tanaman (Pratama *et al.*, 2017). Efek kombinasi dapat bersifat sinergis atau antagonis. Efek sinergis merupakan interaksi positif di mana dua senyawa bekerja sama memberikan efek penghambatan yang lebih besar daripada efek tunggal dari masing-masing senyawa (Blesson *et al.*, 2015). Diharapkan dengan mengkombinasikan dua tanaman dengan kandungan zat aktif yang berbeda akan menghasilkan efek sinergis sehingga efektif digunakan untuk pengobatan (Cahyanta *et al.*, 2020). Pada penelitian ini digunakan kombinasi bahan - bahan alam untuk melihat apakah dari kombinasi memiliki aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan dengan aktivitas tunggal dari masing-masing bahan. Metode pengujian sinergitas antimikroba dapat dilakukan dengan metode *checkerboard* dan metode pita kertas.

Perbandingan ekstrak etanol kulit nanas dan daun alpukat (2:1) memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif dikarenakan pada penelitian Yolandari (2022) konsentrasi 50% pada kulit nanas memiliki dengan zona hambat sebesar 14,83 mm. Penelitian Andriani (2016) konsentrasi daun alpukat 35% memiliki zona hambat sebesar 12,45%.

Metode difusi dan dilusi digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri. Metode difusi menggunakan disk cakram yang mengandung antimikroba yang ditambahkan ke media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri yang akan diuji dan kemudian diinkubasi selama satu hari pada suhu 37° C. Daerah hambat dapat dilihat dengan melihat daerah sekitar disk cakram. Daerah bening di sekitar disk cakram menunjukkan aktivitas antibakteri (Wilapangga *et al.*, 2018). Sedangkan metode dilusi, dilakukan dengan bahan aktif dicampur dengan media inokulasi, yang kemudian dimasukkan ke dalam bakteri dan diinkubasi. Hasil pengujian metode dilusi diukur dengan melihat apakah ada pertumbuhan bakteri pada media. (Effendi *et al.*, 2014).

M. Hipotesis

1. Dapat ditentukan KBM pada ekstrak etanol kulit buah nanas (*Ananas comosus* L) dan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap bakteri *S. aureus*.
2. Perbandingan kombinasi ekstrak etanol kulit buah nanas (*Ananas comosus* L) dan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang memiliki aktivitas daya bunuh paling optimal terhadap bakteri *S. aureus* adalah 2:1.

3. Dapat diketahui pola efek kombinasi ekstrak etanol kulit buah nanas (*Ananas comosus* L) dan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai antibakteri adalah sinergis.
4. Kombinasi ekstrak etanol kulit buah nanas (*Ananas comosus* L) dan ekstrak etanol daun alpukat (*Persea americana* Mill) memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*.