

**KOMBINASI EKSTRAK DAUN ALPUKAT (*Persea americana*) DAN  
DAUN PEPAYA (*Carica papaya*) TERHADAP DAYA HAMBAT  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

**Anggita Berliana Safira<sup>1\*</sup>, Faisal<sup>2</sup>, Gatra Ervi Jayanti<sup>3</sup>**

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas  
Islam Malang

Email: [anggitaBerliana22@gmail.com](mailto:anggitaBerliana22@gmail.com)\*, [faisal\\_abd@unisma.ac.id](mailto:faisal_abd@unisma.ac.id),  
[gatra.ervi@unisma.ac.id](mailto:gatra.ervi@unisma.ac.id)

**ABSTRACT**

Typhoid fever is an infectious disease caused by *Salmonella typhi* bacteria with a high mortality rate in Indonesia. Inappropriate use of antibiotics can lead to bacterial resistance, so safer natural antibacterial alternatives are needed. Avocado leaves (*Persea americana*) and papaya leaves (*Carica papaya*) are known to contain secondary metabolite compounds such as flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins that have antibacterial potential. This study aims to test the effectiveness of a combination of avocado and papaya leaf extracts on the inhibition of *Salmonella typhi* in vitro. This study was a laboratory experimental study with a completely randomized design (CRD) using the Kirby-Bauer disc diffusion method. The extract was prepared by maceration using 96% ethanol. The treatments consisted of a positive control of 0.005% chloramphenicol, a negative control of sterile distilled water, single extracts of avocado and papaya leaves at concentrations of 25, 50% 75, and 100%, and a combination of extracts at a ratio of 1:1, 2:1, and 1:2, each treatment was repeated three times. Data were analyzed using the Kruskal–Wallis test followed by the Mann–Whitney test. The results showed that all treatments were able to inhibit the growth of *Salmonella typhi* with a moderate inhibitory effect. A single papaya leaf extract had a higher inhibitory effect than avocado leaf extract and several extract combinations. The highest inhibitory effect was obtained from papaya leaf extract at a concentration of 50% with an average inhibition zone diameter of 9.49 mm. Antibacterial activity is influenced by bioactive compounds that work to damage the membrane and cell walls of bacteria. Based on the results of the study, it can be concluded that the combination of avocado leaf and papaya leaf extracts showed an additive antibacterial effect, while a single papaya leaf extract was more effective in inhibiting the growth of *Salmonella typhi* than the combination of the two extracts.

**Keywords:** Zone of Inhibition, Antibacterial Activity, Ethanol Extract, Disc Diffusion

**ABSTRAK**

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* dengan angka kematian yang masih tinggi di Indonesia. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi bakteri sehingga diperlukan alternatif antibakteri alami yang lebih aman. Daun alpukat (*Persea americana*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin yang berpotensi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya terhadap daya hambat *Salmonella typhi* secara in vitro. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL) dan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Perlakuan terdiri atas kontrol positif kloramfenikol 0,005%, kontrol negatif aquadest steril, ekstrak tunggal daun alpukat dan daun pepaya konsentrasi 25, 50, 75, dan 100%, serta kombinasi ekstrak rasio 1:1, 2:1, dan 1:2, setiap perlakuan dilakukan tiga kali ulangan. Data dianalisis

menggunakan uji Kruskal–Wallis dan dilanjutkan Mann–Whitney. Hasil penelitian menunjukkan seluruh perlakuan mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan kategori daya hambat sedang. Ekstrak tunggal daun pepaya memiliki daya hambat lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun alpukat maupun beberapa kombinasi ekstrak. Daya hambat tertinggi diperoleh pada ekstrak daun pepaya konsentrasi 50% dengan rerata diameter zona hambat sebesar 9,49 mm. Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh senyawa bioaktif yang bekerja merusak membran dan dinding sel bakteri. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya menunjukkan efek antibakteri yang bersifat aditif, sedangkan ekstrak tunggal daun pepaya lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dibandingkan kombinasi kedua ekstrak tersebut.

**Kata kunci:** Zona Hambat, Aktivitas Antibakteri, Ekstrak Etanol, Difusi Cakram.

## 1. Pendahuluan

Penyakit infeksi menjadi salah satu masalah kesehatan global yang serius. Mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, jamur, dan protozoa dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi (Simanjuntak & Rahmiati, 2021). Bakteri merupakan penyumbang terbesar kasus infeksi. Salah satu bakteri patogen yang sering ditemukan pada kasus infeksi saluran cerna adalah *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* (Pratiwi, 2021; Li dkk. 2020).

*Salmonella typhi* merupakan penyebab utama demam tifoid yang ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi (Hu dkk. 2022). Demam tifoid adalah infeksi serius yang dapat mengancam jiwa jika tidak ditangani dengan cepat dan tepat, bahkan berpotensi menyebabkan kematian. Menurut laporan WHO (2018), penyakit ini mencatat 11-20 juta kasus setiap tahun, dengan angka kematian sekitar 128.000-161.000 orang. Di Indonesia, angka penderita demam tifoid masih tinggi, mencapai 0,8-1% (Sudarwati, 2018). Penyakit ini bersifat sistemik

dan dapat menyebabkan komplikasi serius pada hati dan usus (Adhuri dkk. 2018; Cita, 2011).

Pengobatan utama infeksi bakteri masih bergantung pada antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi antimikroba, yang menjadi ancaman kesehatan global (WHO, 2022). Selain itu, beberapa antibiotik generasi baru memiliki efek toksik terhadap tubuh. Kondisi ini mendorong pengembangan bahan alam sebagai alternatif antibakteri alami yang relatif aman (Sarala dkk. 2010; Jonovska dkk. 2003). Tanaman juga memiliki spesifikasi khasiat yang sangat unik karena dalam satu jenis tanaman dapat memiliki khasiat yang beragam (Mahendra, 2010).

Tanaman obat dikenal memiliki berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin yang berpotensi sebagai agen antimikroba (Mahendra, 2010). Salah satu tanaman yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional adalah pepaya. Berdasarkan penelitian Nasri dkk. (2022) daun pepaya mengandung senyawa bioaktif seperti

alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Tanaman lain yang juga berpotensi sebagai antibakteri adalah alpukat (*Persea americana*). Daunnya mengandung senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp. dan *Bacillus* sp. (Charyadie, 2014; Anggorowati dkk. 2016). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Azzahra dkk. (2019) menyebutkan ekstrak etanol daun alpukat memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, tannin dan golongan flavonoid yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak tanaman dapat menghasilkan efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan mikroba (Otieno dkk. 2008). Efek sinergis terjadi karena adanya perbedaan mekanisme kerja metabolit sekunder dari masing-masing tanaman yang saling mendukung, sehingga meningkatkan efektivitas antibakteri secara keseluruhan. Studi terdahulu banyak mengkaji efektivitas ekstrak tunggal dari daun alpukat maupun daun pepaya dalam menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri, termasuk *Salmonella typhi*. Namun belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengkaji efektivitas kombinasi kedua

ekstrak tersebut beserta perbandingannya dengan ekstrak tunggal secara *in vitro* terhadap *Salmonella typhi*.

Berdasarkan latar belakang di atas, uji efektivitas kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya menarik untuk diteliti lebih lanjut sebagai agen antibakteri alami terhadap *Salmonella typhi*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan produk fitofarmaka antibakteri yang aman, ekonomis dan terjangkau.

## **2. Metode Penelitian**

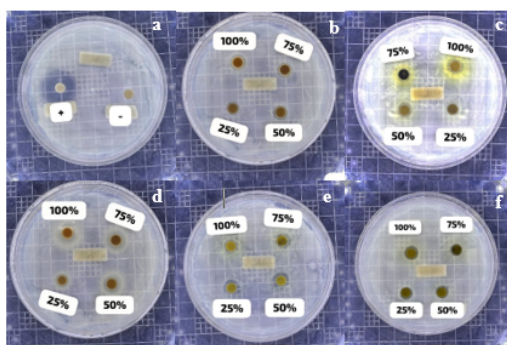
Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Terpadu Universitas Islam Malang, Jawa Timur, dengan kondisi kerja aseptis pada suhu ruang ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) dan berlangsung selama 2 bulan, yaitu pada bulan November sampai Januari 2026. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL) dan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Perlakuan terdiri atas kontrol positif kloramfenikol 0,005%, kontrol negatif aquadest steril, ekstrak tunggal daun alpukat dan daun pepaya konsentrasi 25, 50, 75, dan 100%, serta kombinasi ekstrak rasio 1:1, 2:1, dan 1:2, setiap perlakuan dilakukan tiga kali ulangan. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis dan dilanjutkan Mann–Whitney.

### 3. Hasil Penelitian

#### 3.1 Data Hasil Pengukuran Zona Hambat

Pengujian aktivitas antibakteri dalam penelitian ini dilakukan dengan mengamati terbentuknya zona hambat di sekitar cakram uji pada media yang telah diinokulasi bakteri. Zona hambat atau zona bening merupakan indikator adanya kemampuan senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, maka semakin tinggi potensi aktivitas antibakteri dari ekstrak maupun kombinasi yang digunakan. Gambar 7 menyajikan perbandingan zona hambat antara kontrol, ekstrak tunggal, serta kombinasi ekstrak dengan berbagai rasio terhadap bakteri uji.

**Gambar 1.** Zona Hambat *Salmonella typhi*: (a) kontrol positif dan negatif; (b) daun alpukat; (c) daun pepaya; (d) kombinasi 1:1; (e) kombinasi 2:1; (f) kombinasi 1:2



Penelitian ini berhasil mengukur aktivitas antibakteri dari ekstrak tunggal maupun kombinasi daun alpukat dan daun pepaya terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Efektivitas kedua ekstrak tersebut terlihat jelas dari terbentuknya zona bening atau zona

hambat di sekeliling cakram yang telah direndam dalam larutan uji, yang menandakan bahwa senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin mampu menghalangi difusi nutrisi dan menyebabkan lisis sel bakteri Gram-negatif. Untuk memastikan validitas uji, digunakan kontrol positif antibiotik kloramfenikol yang menunjukkan aktivitas penghambatan kuat, dan kontrol negatif aquadest yang memastikan tidak ada faktor lain seperti kontaminasi atau efek pelarut yang mempengaruhi pembentukan zona. Tabel 1 menunjukkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun alpukat, daun pepaya, serta kombinasi ekstrak keduanya terhadap *Salmonella typhi* pada berbagai konsentrasi.

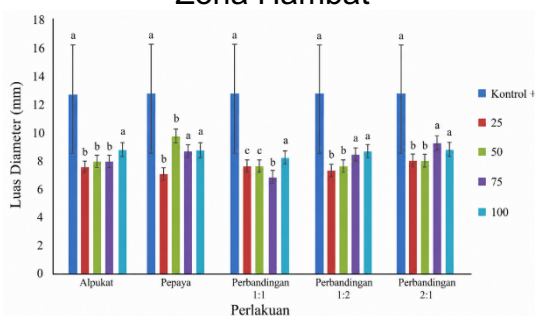
**Tabel 1.** Diameter zona hambat ekstrak terhadap *Salmonella typhi*

| Sampel              | Konsentrasi (%) | Diameter Zona Hambat (mm) |      |       | Rerata (mm) | Kategori  |
|---------------------|-----------------|---------------------------|------|-------|-------------|-----------|
|                     |                 | U1                        | U2   | U3    |             |           |
| Kontrol +           | 0,005           | 7,92                      | 12,7 | 15,27 | 11,96       | Kuat      |
| Kontrol -           | -               | 0                         | 0    | 0     | 0           | Tidak ada |
| Alpukat (A)         | 25              | 7,15                      | 6,92 | 6,80  | 6,95        | Sedang    |
|                     | 50              | 7,72                      | 7,50 | 7,02  | 7,41        | Sedang    |
|                     | 75              | 7,7                       | 7,55 | 7,12  | 7,45        | Sedang    |
|                     | 100             | 8,0                       | 7,87 | 8,05  | 7,97        | Sedang    |
| Pepaya (P)          | 25              | 6,10                      | 7,02 | 6,72  | 6,61        | Sedang    |
|                     | 50              | 9,85                      | 9,5  | 9,62  | 9,49        | Sedang    |
|                     | 75              | 10,45                     | 7,47 | 7,75  | 8,65        | Sedang    |
|                     | 100             | 7,05                      | 10,0 | 9     | 8,68        | Sedang    |
| Kombinasi 1:1 (A:P) | 25              | 7,10                      | 7,45 | 6,50  | 7,01        | Sedang    |
|                     | 50              | 7,15                      | 7,30 | 7,10  | 7,18        | Sedang    |
|                     | 75              | 7,65                      | 7,3  | 6,85  | 7,26        | Sedang    |
|                     | 100             | 7,95                      | 8,32 | 7,75  | 8           | Sedang    |
| Kombinasi 2:1 (A:P) | 25              | 7,45                      | 8,12 | 8,02  | 7,86        | Sedang    |
|                     | 50              | 8,02                      | 7,82 | 8,3   | 8,04        | Sedang    |
|                     | 75              | 9,72                      | 9,12 | 9,2   | 9,34        | Sedang    |
|                     | 100             | 8,2                       | 8,72 | 9,27  | 8,66        | Sedang    |
| Kombinasi 1:2 (A:P) | 25              | 6,75                      | 7,2  | 7,42  | 7,12        | Sedang    |
|                     | 50              | 7,12                      | 7,47 | 7,42  | 7,33        | Sedang    |
|                     | 75              | 8,02                      | 8,05 | 8     | 8,01        | Sedang    |
|                     | 100             | 7,95                      | 8,6  | 7,9   | 8,15        | Sedang    |

Berdasarkan data hasil penelitian, diketahui bahwa seluruh kelompok perlakuan ekstrak daun alpukat dan daun pepaya menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Diameter zona hambat yang terbentuk berada dalam kategori sedang (6–10 mm), Data diolah dengan uji Kruskal-Wallis terhadap daya hambat ekstrak daun alpukan, daun pepaya, dan kontrol. Berdasarkan

hasil uji Kruskal-Wallis yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ), maka dilakukan uji lanjut Mann-Whitney untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang memiliki perbedaan signifikan terhadap daya hambat *Salmonella typhi*.

**Gambar 2.** Rata – rata luas Diameter Zona Hambat



### 3.2 Pembahasan

#### 3.2.1 Perbandingan Kontrol Negatif dan Positif

Hasil uji kontrol positif menggunakan kloramfenikol terhadap *Salmonella typhi*, terlihat zona hambat yang jelas dan besar dengan diameter rata-rata 11,96 mm sesuai data Tabel 1 yang termasuk kategori kuat menurut Davis and Stout (1971). Gambar 1a menunjukkan hasil uji kontrol positif menggunakan kloramfenikol terhadap *Salmonella typhi*, terlihat zona hambat yang luas dan konsisten di sekitar cakram kloramfenikol menunjukkan sensitivitas tinggi bakteri uji terhadap antibiotik ini, yang bekerja melalui mekanisme inhibisi sintesis protein ribosom subunit 50S. Penelitian Zahra dkk. (2021) melaporkan bahwa kloramfenikol sebagai kontrol positif efektif menghasilkan zona  $>20$  mm

terhadap patogen serupa, mengonfirmasi validitas metode dan tidak adanya resistensi primer pada isolat penelitian ini, sehingga memperkuat interpretasi hasil ekstrak tanaman yang berada pada kategori sedang (6-10 mm). Besarnya zona hambat pada kontrol positif dibandingkan dengan ekstrak daun alpukat dan daun pepaya disebabkan oleh kloramfenikol merupakan antibiotik murni yang memiliki kandungan senyawa aktif tunggal dengan konsentrasi terstandarisasi, sehingga mampu berdifusi secara optimal ke dalam media dan langsung menargetkan sistem sintesis protein bakteri. Penelitian oleh Pratiwi (2023) menyatakan bahwa antibiotik standar menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan ekstrak tumbuhan karena memiliki kemurnian senyawa aktif yang tinggi dan mekanisme kerja yang lebih spesifik terhadap sel bakteri.

Kontrol negatif pada Tabel 1 dengan nilai rerata 0 mm menunjukkan bahwa perlakuan tanpa bahan aktif tidak memberikan efek penghambatan terhadap mikroorganisme uji. Hasil uji kontrol negatif menggunakan aquadest terhadap *Salmonella typhi*, terlihat tidak adanya zona hambat sama sekali (Gambar 1a), yang mengkonfirmasi kategori nol inhibisi sesuai kriteria Davis and Stout (1971) dan memvalidasi bahwa pelarut steril tidak memiliki efek antimikroba intrinsik dalam metode difusi cakram. Pertumbuhan koloni bakteri yang merata dan padat di sekitar cakram

aquadest menegaskan tidak adanya kontaminasi, atau pengaruh osmotik dari media yang dapat memengaruhi pembentukan zona hambat, sehingga memperkuat interpretasi bahwa segala zona bening pada perlakuan ekstrak berasal murni dari senyawa bioaktif daun alpukat dan pepaya. Hal ini sejalan dengan penelitian Nasution dkk. (2022) yang melaporkan kontrol negatif aquadest menghasilkan 0 mm terhadap *Salmonella typhi* sebagai standar validasi, memastikan sensitivitas metode terhadap inhibitor spesifik tanpa interferensi non-spesifik

### **3.2.2 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Alpukat terhadap *Salmonella typhi***

Ekstrak daun alpukat menunjukkan peningkatan daya hambat yang progresif terhadap *Salmonella typhi* seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak dari 25% hingga 100%,. Peningkatan tersebut ditunjukkan oleh bertambahnya rata-rata diameter zona hambat dari 6,95 mm menjadi 7,97 mm. Aktivitas antibakteri ekstrak daun alpukat berkaitan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder, seperti flavonoid dan saponin, yang larut dalam etanol. Peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan jumlah senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media semakin besar, sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga meningkat. Hal ini menunjukkan adanya hubungan dosis-respons, di mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun alpukat,

semakin kuat aktivitas antibakterinya terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* (Nasri dkk. 2022).

Gambar 1b Menunjukkan hasil uji tunggal daun alpukat yang menunjukkan aktivitas antibakteri sedang terhadap *Salmonella typhi* dengan zona hambat rata-rata pada Tabel 1 yang semuanya masuk kategori sedang menurut Davis and Stout (1971). Peningkatan progresif tersebut disebabkan oleh senyawa bioaktif seperti flavonoid dan alkaloid yang semakin dominan pada konsentrasi tinggi, merusak membran luar bakteri Gram-negatif melalui pembentukan kompleks protein-lipid sehingga meningkatkan permeabilitas dan memicu lisis sel. Flavonoid berperan sebagai donor elektron yang mengikat radikal bebas serta mengganggu integritas membran, sementara saponin menyebabkan hemolisis melalui pembentukan pori-pori pada membran sel bakteri. Temuan ini sejalan dengan Nasri dkk. (2022), yang melaporkan zona hambat hingga 11,60 mm dari ekstrak etanol daun alpukat terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 100%, menegaskan potensinya sebagai alternatif antibakteri alami di tengah maraknya resistensi antibiotik.

Liazarti (2022) menjelaskan bahwa membran ini secara signifikan membatasi penetrasi senyawa antimikroba ke dalam sel, sehingga membuat bakteri Gram-negatif secara inheren lebih resisten dibandingkan bakteri Gram-positif. Ghai (2018), menegaskan bahwa permeabilitas

rendah membran luar merupakan hambatan utama yang menghalangi pencapaian efek antibakteri optimal pada konsentrasi rendah. Oleh karena itu, meskipun konsentrasi ekstrak ditingkatkan, peningkatan zona hambat tetap marginal dari 6,95 mm (25%) menjadi 7,97 mm (100%), karena sebagian besar senyawa bioaktif terhalang oleh barrier lipopolisakarida (LPS) sebelum mencapai target intraseluler.

Zona hambat yang terbentuk pada uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun alpukat terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan diameter yang relatif besar, namun tidak tampak bening secara sempurna. Kondisi ini mengindikasikan bahwa aktivitas antibakteri yang dihasilkan cenderung bersifat bakteriostatik, yaitu menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara menyeluruh. Akibatnya, masih terdapat sel bakteri yang bertahan di dalam area hambat sehingga zona tampak keruh (Bouarab-Chibane dkk., 2019). Kandungan flavonoid dan saponin dalam ekstrak daun alpukat diketahui bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel serta aktivitas enzim bakteri. Namun, pada konsentrasi tertentu, efeknya belum mencapai tingkat bakterisidal. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak yang digunakan kemungkinan masih berada di bawah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), sehingga bakteri hanya mengalami hambatan pertumbuhan tanpa mengalami

kematian sel secara menyeluruh (Oulahal & Degraeve, 2022).

Selain itu, ketidakbeningan zona hambat juga dipengaruhi oleh karakteristik bakteri uji, yaitu *Salmonella typhi* yang termasuk bakteri Gram-negatif. Bakteri ini memiliki membran luar yang kompleks dan mengandung lipopolisakarida yang berfungsi sebagai penghalang terhadap penetrasi senyawa antibakteri, sehingga efektivitas senyawa aktif menjadi tidak optimal dan menghasilkan hambatan yang bersifat parsial. Di sisi lain, pigmen alami ekstrak daun alpukat yang berwarna kecokelatan turut berdifusi ke dalam media agar dan dapat memengaruhi kejernihan zona hambat, meskipun aktivitas penghambatan tetap terjadi. Faktor teknis lain yang turut memengaruhi adalah kepadatan inokulum bakteri dan waktu inkubasi, yang dapat menyebabkan zona hambat tampak kurang jelas pada hasil pengamatan. Besarnya diameter zona hambat dipengaruhi oleh konsentrasi serta kemampuan difusi senyawa aktif, di mana peningkatan konsentrasi umumnya akan memperluas zona hambat yang terbentuk (Rahmah dkk., 2024). Sementara itu, ketidakbeningan zona hambat dapat disebabkan oleh sifat aktivitas antibakteri yang cenderung bakteriostatik, sehingga masih terdapat pertumbuhan bakteri tipis (hazy) pada area hambat (Sari, 2021).

### **3.2.3 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya terhadap *Salmonella typhi***

Ekstrak daun pepaya memberikan hasil daya hambat tertinggi dibandingkan perlakuan lain. Daun pepaya memiliki aktivitas antibakteri sedang terhadap *Salmonella typhi*. Hal ini terlihat dari zona hambat yang semakin lebar pada konsentrasi 50% dengan diameter 9,49 mm, yang mengonfirmasi efek dosis-dependen secara optimal. Konsentrasi 50% lebih optimal dibandingkan 25% (6,61 mm) atau 75-100% (8,65-8,68 mm) karena pada dosis tersebut terjadi keseimbangan senyawa aktif yang mengurangi difusi efektif, sementara pada konsentrasi lebih tinggi ekstrak menjadi terlalu pekat sehingga menghambat pelepasan senyawa aktif secara optimal (Mumtihanah. 2021).

Zona hambat ekstrak etanol daun pepaya terhadap *Salmonella typhi* dengan zona bening yang jelas di sekitar kertas cakram pada berbagai konsentrasi, dengan diameter terbesar pada konsentrasi 50% (9,49 mm) (Gambar 1c), yang mengindikasikan aktivitas antibakteri sedang. Zona bening tersebut terbentuk karena senyawa karpain, flavonoid, dan papain dari daun pepaya menghambat difusi nutrisi ke bakteri serta merusak lapisan luar sel bakteri Gram-negatif sehingga menyebabkan kematian sel di area tersebut. Konsentrasi 50% menghasilkan zona terlebar dibandingkan 25% atau 75-100%

karena pada tingkat tersebut senyawa aktif larut secara optimal tanpa terjadi penggumpalan, sedangkan konsentrasi terlalu tinggi menyebabkan ekstrak pekat yang menghambat penyebaran senyawa. Hal ini sejalan dengan penelitian Siregar (2025) yang melaporkan puncak zona hambat 14 mm pada konsentrasi 16% bukan pada dosis tinggi akibat optimalisasi bioavailabilitas karpain.

### **3.2.4 Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Alpukat dan Daun Pepaya terhadap *Salmonella typhi***

Berdasarkan hasil penelitian, kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* yang tergolong dalam kategori sedang (6–10 mm) menurut klasifikasi Davis and Stout (1971). Seluruh variasi rasio kombinasi (1:1, 2:1, dan 1:2) mampu membentuk zona hambat di sekitar cakram uji, yang menandakan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa interaksi senyawa metabolit sekunder dari kedua tanaman berkontribusi terhadap efek antibakteri secara aditif.

Pada kombinasi rasio 1:1 rerata zona hambat berada pada 7,01–8,00 mm dan relatif stabil pada setiap peningkatan konsentrasi. Rasio seimbang ini memungkinkan interaksi optimal antara flavonoid dan tannin dari daun alpukat dengan alkaloid dan saponin dari daun pepaya. Hasil zona hambat kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya terhadap *Salmonella typhi* dengan zona bening

yang jelas di sekitar kertas cakram pada berbagai konsentrasi, dengan diameter aktivitas antibakteri sedang (Gambar 1d). Rasio 1:1 ini memungkinkan interaksi optimal antara flavonoid dan alkaloid dari daun alpukat dengan alkaloid dan saponin dari daun pepaya. Kombinasi mekanisme tersebut menyebabkan gangguan struktur sel *Salmonella typhi* sebagai bakteri Gram-negatif yang memiliki lapisan LPS pada membran luarnya (Arsiyanti dkk. 2024). Hasil ini sejalan dengan penelitian Siregar (2022) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya menghasilkan zona hambat 7–10 mm terhadap *Salmonella typhi*, serta penelitian Rahmawati (2021) yang menunjukkan ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas sedang terhadap bakteri Gram-negatif.

Kombinasi dengan perbandingan 2:1 menunjukkan rata-rata zona hambat 7,86-9,34. Hasil ini menunjukkan bahwa dominasi ekstrak daun alpukat meningkatkan kandungan flavonoid yang memiliki aktivitas antibakteri kuat melalui mekanisme denaturasi protein sel dan pengkerutan membran bakteri (Niswah dkk. 2023). Gambar 1e menunjukkan zona hambat kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya terhadap *Salmonella typhi* dengan zona bening yang jelas di sekitar kertas cakram pada berbagai konsentrasi, dengan diameter aktivitas antibakteri sedang. Peningkatan zona hambat pada rasio ini menunjukkan bahwa senyawa

fenolik dari daun alpukat memiliki peran yang lebih signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi*. Temuan ini didukung oleh penelitian Nasution (2023) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat konsentrasi tinggi mampu menghasilkan zona hambat mendekati 10–12 mm terhadap bakteri enterik, mengindikasikan adanya efek aditif yang lebih kuat ketika proporsi alpukat lebih besar dalam kombinasi, sedangkan kombinasi dengan rasio 1:2 memberikan hasil rerata zona hambat 7,12-8,15 mm dan tetap termasuk kategori sedang, meskipun sedikit lebih rendah dibandingkan rasio 2:1. Dominasi daun pepaya meningkatkan kandungan alkaloid karpain, flavonoid, serta enzim papain yang memiliki aktivitas antibakteri melalui gangguan pembentukan dinding sel dan peningkatan permeabilitas membran.

Gambar 1f menunjukkan zona hambat kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya terhadap *Salmonella typhi* dengan zona bening yang jelas di sekitar kertas cakram pada berbagai konsentrasi, dengan diameter aktivitas antibakteri sedang. Penelitian Hidayanti (2020) juga melaporkan bahwa ekstrak daun pepaya menghasilkan zona hambat 6–9 mm terhadap *Salmonella typhi*, yang konsisten dengan hasil penelitian ini.

### **3.2.5 Analisis Data**

Berdasarkan hasil uji Kruskal–Wallis yang menunjukkan adanya

perbedaan signifikan antarperlakuan ( $p < 0,05$ ), dilakukan uji lanjut Mann–Whitney untuk mengidentifikasi pasangan perlakuan yang memiliki perbedaan nyata terhadap daya hambat *Salmonella typhi*. Hasil uji lanjut pada Gambar 2 menunjukkan bahwa respons antibakteri setiap perlakuan berbeda bergantung pada jenis ekstrak dan konsentrasi yang digunakan. Pada perlakuan ekstrak tunggal daun alpukat, peningkatan konsentrasi diikuti oleh bertambahnya diameter zona hambat. Perbedaan signifikan hanya ditemukan pada konsentrasi 100% yang bernotasi a dengan 75% yang bernotasi b, sedangkan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan notasi yang sama yaitu b. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi hingga 75% belum mampu meningkatkan aktivitas antibakteri secara signifikan. Aktivitas penghambatan meningkat pada konsentrasi 100% karena jumlah senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media agar. Daun alpukat mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin yang berperan dalam merusak membran sel, meningkatkan permeabilitas dinding sel, serta menghambat metabolisme *Salmonella typhi* (Cushnie & Lamb, 2011).

Pada perlakuan ekstrak tunggal daun pepaya, seluruh konsentrasi ekstrak tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Perbedaan nyata hanya ditemukan antara konsentrasi 25%

yang bernotasi b dan kontrol positif yang bernotasi a. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak daun pepaya pada konsentrasi terendah masih lebih rendah dibandingkan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Meskipun diameter zona hambat cenderung meningkat seiring bertambahnya konsentrasi, peningkatan tersebut belum cukup besar untuk menghasilkan perbedaan yang bermakna. Aktivitas antibakteri daun pepaya dipengaruhi oleh kandungan flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang mampu mengganggu integritas membran sel, menghambat aktivitas enzim, serta menyebabkan kebocoran komponen intraseluler bakteri (Aravind dkk., 2013).

Perlakuan kombinasi dengan perbandingan 1:1 menunjukkan pola yang berbeda dibandingkan ekstrak tunggal. Perbedaan signifikan ditemukan pada konsentrasi 75% yang bernotasi b dengan 50% yang bernotasi c, dan konsentrasi 100% yang bernotasi a dengan 75% yang bernotasi b, sedangkan konsentrasi 25% dengan 50% tidak berbeda nyata dengan notasi yang sama yaitu c. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas antibakteri mulai terlihat pada konsentrasi 75% dan terus meningkat hingga konsentrasi 100%. Peningkatan daya hambat diduga berkaitan dengan bertambahnya jumlah senyawa bioaktif yang berdifusi ke dalam media sehingga kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri menjadi lebih optimal. Interaksi senyawa aktif dari

kedua ekstrak juga diduga menghasilkan efek sinergis yang memperkuat aktivitas antibakteri.

Pada kombinasi ekstrak dengan perbandingan 2:1, perbedaan signifikan hanya ditemukan antara konsentrasi 75% yang bernotasi a dengan 50% yang bernotasi b. Pasangan konsentrasi lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Temuan tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi hingga 75% mampu meningkatkan daya hambat secara signifikan, sedangkan peningkatan menjadi 100% tidak memberikan tambahan aktivitas yang bermakna. Pola yang sama juga terlihat pada kombinasi ekstrak dengan perbandingan 1:2. Perbedaan signifikan hanya terjadi antara konsentrasi 75% yang bernotasi a dengan 50% yang bernotasi b, sedangkan konsentrasi lainnya tidak berbeda nyata. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa efektivitas antibakteri telah mencapai kondisi optimum pada konsentrasi 75%, sehingga peningkatan konsentrasi menjadi 100% tidak lagi menghasilkan peningkatan daya hambat yang signifikan. Kondisi tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh keterbatasan difusi senyawa aktif di dalam media agar atau telah tercapainya konsentrasi efektif ekstrak, sehingga penambahan konsentrasi tidak lagi meningkatkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Balouiri dkk., 2016).

#### **4. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak daun alpukat (*Persea americana*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram. Seluruh perlakuan menunjukkan terbentuknya zona hambat dengan kategori sedang. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak tunggal daun pepaya memiliki daya hambat lebih tinggi yaitu 9, 49 dibandingkan ekstrak daun alpukat maupun beberapa kombinasi ekstrak. Dengan demikian, kombinasi ekstrak daun alpukat dan daun pepaya menunjukkan efek antibakteri yang bersifat aditif, sedangkan ekstrak tunggal daun pepaya lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* dibandingkan kombinasi kedua ekstrak tersebut.

#### **5. DAFTAR PUSTAKA**

- Adhuri, I. K., Kristina, T. N., & Antari, A. L. (2018). Perbedaan potensi antibakteri bawang putih tunggal dengan bawang putih majemuk terhadap *Salmonella typhi*. *Jurnal Kedokteran Diponegoro* (Diponegoro Medical Journal), 7(2), 415–423. <https://doi.org/10.14710/dmj.v7i2>
- Aravind, G., Bhowmik, D., Duraivel, S., & Harish, G. (2013). Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(1), 7–15.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in

- understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.018>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665.  
<https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971>
- Ghai, I., & Ghai, S. (2018). Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability. *Infection and drug resistance*, 523–530.
- Handayani, S., Yuniawan, A., Wikaningrum, T., & Supriyati, S. (2018). Sultan Agung Islamic University 2. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(2), 766.
- Harti, A. S. (2015). Mikrobiologi kesehatan Peran Mikrobiologi Dalam Bidang Kesehatan (*Erang Risanto* (ed)).
- Hu, B., Hou, P., Teng, L., Miao, S., Zhao, L., Ji, S., & Yue, M. (2022). Genomic investigation reveals a community typhoid outbreak caused by contaminated drinking water in China, 2016. *Frontiers in medicine*, 9, 753085.  
<https://doi.org/10.3389/fmed.2022.753085>
- Kasim, V. N. A. (2020). Peran imunitas pada infeksi *Salmonella typhi*. Gorontalo: CV Athra Samudra.  
<https://doi.org/10.21070/2019/978-623-7578-00->
- Liazarti, D. (2022). Mekanisme Resistensi terhadap Anti Mikroba. *Collaborative Medical Journal (CMJ)*, 5(3), 37–45.
- Listyawati, A. F. (2016). Pola pertumbuhan *Pseudomonas* sp. dengan menggunakan variasi konsentrasi d-glukosa dalam media pertumbuhan terhadap waktu inkubasi. *Jurnal*
- Mahendra, B. (2010). Panduan Meracik Herbal. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Marsya, F. A. (2017). Keragaan Dan Kualitas Tanaman Pepaya Gonotipe Ipb 11 (*Carica Papaya* L) Di Dataran Rendah Dan Dataran Tinggi. Institut Pertanian Bogor.
- Mumtihanah M. (2021). Evaluasi Stabilitas Fisik dan Profil Difusi Sediaan Gel Minyak Zaitun. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 201–210.
- Nadlif, A. M., & Walid, M. (2024). Daya hambat *Staphylococcus aureus* terhadap ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata* L.). *OBAT: Jurnal Ilmiah Obat dan Teknologi Farmasi*, 2(3), 76–86.  
<https://doi.org/10.61132/obat.v2i3>
- Nasri, N., Kaban, V. E., Gurning, K., Syahputra, H. D., & Satria, D. (2022). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* Linn.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 1(3), 252–259.  
<https://doi.org/10.55123/insologi.v1i3.256>
- Nasution, R. (2023). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun alpukat terhadap bakteri enterik. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), 78–85.
- Nasution, R., Fitri, A., & Harahap, R. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih terhadap *Salmonella typhi*. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 17(2), 112–119.  
<https://doi.org/10.12345/jkmi.v17i2.456>
- Pratiwi, R. H. (2021). Virus bakteri sebagai terapi untuk penyakit infeksi. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*, 4(2), 193–204.  
<https://doi.org/10.31539/bioedusa-ins.v4i2.2331>

- Rahmah, W. N., Ramdhani, F. H., & Hidayani, A. (2024). Gambaran Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode DISC dan Sumuran: Description of Antibiotic Sensitivity Test Results on *Escherichia coli* Bacteria Using DISC and Well Methods. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 10(2), 344-348.
- Sarala, G., George, S., & Benny, P, (2010). Antimicrobial Effect of *Punica granatum* on Pyogenic Bacteria, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, Vol 3 (06).
- Sari, E. D. (2021). Uji Aktivitas Daya Hambat terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif Menggunakan Metode Sumur Difusi. *Jurnal Bioshell*, 10(1), 19-24.
- Sari, W. P. (2017). Perbedaan Hasil Uji Kepekaan *Salmonella Typhi* Menggunakan *Mueller Hinton Agar* dan *Nutrient Agar* dengan Antibiotik Ampicillin, Ciprofloxacin dan Trimethoprim-Sulfamethoxazole (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Semarang).
- Simanjuntak, H. A. (2020). Antibacterial activity of ethanolic extract of Kitolod (*Hippobroma longiflora*) leaf against *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(1), 52-54.  
<https://doi.org/10.22270/ajprd.v8i1.660>
- Siregar, L. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. Skripsi Diploma, Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan.  
<https://repository.poltekkesmedan.ac.id/id/eprint/3374/>
- Siregar, L. S. (2025). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Salmonella typhi* (Skripsi). Repository Diploma Poltekkes Medan.  
<https://repository.poltekkesmedan.ac.id/id/eprint/>
- Sudarwati, T. P. L. (2018). Aktivitas Antibakteri Daun Pepaya (*Carica Papaya*) Menggunakan Pelarut Ethanol terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Journal of Research and Technology*, 4(1), 63-68.
- World Health Organization (WHO). (2018). Drug Resistance: Antimicrobial use. World Health Organization Program and Projects. Retrieved from <https://www.who.int/newsroom/factsheets/detail/antimicrobialresistance>
- World Health Organization, World Organisation for Animal Health, & UN Environment. (2022). Antimicrobial Resistance Multi-Partner Trust Fund annual report 2021: Annual report 2023. World Health Organization.  
<https://www.who.int/publications/item/9789240051362>
- Wulandari, Y. (2023). Uji efektivitas antibakteri ekstrak daun alpukat (*Persea americana* miller) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Karya tulis ilmiah). Institut Teknologi dan Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.  
<http://repository.itskesicme.ac.id/id/eprint/6990>
- Zahra, I., Nurdin, H., & Murniaty, S. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Medfarm*, 2(1), 1-8.  
<https://jurnalfarmasidankesehatan.ac.id>