

**VARIASI KONSENTRASI KOMBINASI EKSTRAK BUAH BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle*)
MENGGUNAKAN METODE HIDROEKSTRAKSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



Oleh :

MURSYIDAH LATHIFATUL KHUSNA

1913206029

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

JULI 2023



Watermarkly

**VARIASI KONSENTRASI KOMBINASI EKSTRAK BUAH BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle*)
MENGGUNAKAN METODE HIDROEKSTRAKSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi

(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

MURSYIDAH LATHIFATUL KHUSNA

1913206029

PROGRAM STUDI S1 FARMASI

STIKES KARYA PUTRA BANGSA

TULUNGAGUNG

JULI 2023

HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

VARIASI KONSENTRASI KOMBINASI EKSTRAK BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle*) MENGGUNAKAN METODE HIDROEKSTRAKSI SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO

Yang diajukan oleh:

MURSYIDAH LATHIFATUL KHUSNA
1913206029

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama


apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm.
NIDN. 07 191289 06

Pembimbing Pendamping


Afidatul Muadifah, M.Si.
NIDN. 07 080391 02



HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

VARIASI KONSENTRASI KOMBINASI EKSTRAK BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle*) MENGGUNAKAN METODE HIDROEKSTRAKSI SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO

Oleh:

MURSYIDAH LATIFATUL KHUSNA

1913206029

Tanggal:

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Ketua Penguji : apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm.
Anggota Penguji : 1. Afidatul Muadifah, M.Si.
 2. Rahma Diyan Martha S.Si., M.Sc.
 3. apt. Arif Santoso, M.Farm.

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Mengetahui

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

apt. Arif Santoso, M.Farm.



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, Juli 2023

Penulis,

Mursyidah Lathifatul Khusna



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal penelitian dengan judul "**VARIASI KONSENTRASI KOMBINASI EKSTRAK BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) dan DAUN SIRIH (*Piper betle*) MENGGUNAKAN METODE HIDROEKSTRAKSI SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**" ini dengan lancar meskipun masih banyak kekurangan.

Proposal ini disusun sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa. Penulis menyadari bahwa proposal ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan, dan nasehat dari berbagai pihak sehingga proposal ini dapat diselesaikan. Dengan ketulusan hati, penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Allah Subhanahu Wata'ala yang telah memberikan nikmat sehat dan kelancaran dalam proses penyusunan skripsi ini.
2. Bapak apt. Arif Santoso., M.Farm selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa
3. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Afidatul Muadifah, M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi.
5. Kedua orang tua dan kakak saya atas segala doa, dukungan, semangat serta curahan kasih sayang yang tak terhingga sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini.
6. Teman kelompok saya Putri dan Windu yang selalu memberikan semangat serta saran dalam penelitian maupun penyusunan skripsi.
7. Teman-teman angkatan 2019 yang telah memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan skripsi.
8. Teman Departemen Bahan Alam yang telah memberikan dukungan dan semangat.
9. Sahabat saya Agnes Meike yang telah memberikan dukungan, semangat dan saran dalam penyusunan skripsi.



10. Terakhir, untuk diri saya sendiri, Mursyidah Lathifatul Khusna atas segala semangat, kerja keras untuk tidak menyerah dalam mengerjakan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan proposal skripsi ini. Untuk itu, saran dan kritik akan sangat membantu agar proposal skripsi ini dapat menjadi lebih baik.

Terimakasih,

Tulungagung, 3 Juli 2023

Penulis

Mursyidah Lathifatul Khusna

**VARIASI KONSENTRASI KOMBINASI EKSTRAK BUAH BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) DAN DAUN SIRIH (*Piper betle*)
MENGGUNAKAN METODE HIDROEKSTRAKSI SEBAGAI
ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**

Mursyidah Lathifatul Khusna

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri merupakan penyakit yang sering timbul di masyarakat. Bakteri yang menyebabkan infeksi diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan adanya antibiotik. Pada saat ini, beberapa mikroba telah resisten terhadap antibiotik sehingga penggunaan antibakteri dari bahan alam mulai digunakan. Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin yang berguna sebagai antibakteri. Daun sirih (*Piper betle*) mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid dan fenol yang memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode hidroekstraksi dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki aktivitas daya hambat optimum pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 11,05 mm yang bersifat kuat dan dengan diameter hambat *Escherichia coli* sebesar 9,17 mm yang bersifat sedang.

Kata kunci: *Averrhoa bilimbi L.*, *Piper betle*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Hidroekstraksi

**VARIATION CONCENTRATIONS OF COMBINATION STAR FRUIT
(*Averrhoa bilimbi L.*) AND BETEL LEAF (*Piper betle*) EXTRACT
USING HYDROEXTRACTION METHOD AS
ANTBACTERIAL IN VITRO**

Mursyidah Lathifatul Khusna

Bachelor of Pharmacy

ABSTRACT

Infectious diseases caused by bacteria are diseases that often arise in society. Bacteria that cause infection include *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Bacterial growth can be inhibited with antibiotics. At this time, some microbes have become resistant to antibiotics so that the use of antibacterials from natural ingredients has begun to be used. Star fruit (*Averrhoa bilimbi L.*) contains flavonoids, tannins, saponins which are useful as antibacterials. Betel leaf (*Piper betle*) contains saponins, tannins, flavonoids and phenolic compounds which have activity in inhibiting bacteria. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of a combination of star fruit and betel leaf extracts. The method used in this study was the hydroextraction method with various concentrations of 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% and 100%. Antibacterial activity testing using disc diffusion. The results showed that the combination of star fruit and betel leaf extracts had optimum inhibitory activity at a concentration of 100% with an inhibition diameter of 11.05 mm for *Staphylococcus aureus* which was strong and with a diameter of 9.17 mm for *Escherichia coli* which was moderate.

Keywords: *Averrhoa bilimbi L.*, *Piper betle*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Hydro extraction

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	v
INTISARI.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR PERSAMAAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Relevansi Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Uraian Tanaman Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi.....	5
2.1.2 Morfologi Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	5
2.1.3 Kandungan Kimia.....	6
2.2 Uraian Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i>)	6
2.2.1 Klasifikasi.....	6
2.2.2 Morfologi Daun Diri (<i>Piper betle</i>)	7
2.2.3 Kandungan Kimia.....	7
2.3 Kandungan Kimia pada Belimbing Wuluh dan Daun Sirih	8
2.3.1 Flavonoid.....	8
2.3.2 Tanin.....	9
2.3.3 Saponin	9
2.3.4 Terpenoid.....	10
2.4 Ekstraksi	11
2.4.1 Definisi Ekstraksi	11
2.4.2 Hidroekstraksi.....	11
2.5 Bakteri	12
2.5.1 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.5.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	13

2.6 Antibakteri.....	14
2.7 Mekanisme Kerja Antibakteri	14
2.8 Uji Aktivitas Antibakteri.....	15
2.8.1 Metode Difusi.....	16
2.8.2 Metode Pengenceran	17
2.9 Pelarut	17
2.9.1 Aquadest atau Air	18
2.10 Obat Antibakteri Kloramfenikol.....	18
2.11 Hipotesis	20
BAB III METODOLOGI	21
3.1 Bahan.....	21
3.2 Alat.....	21
3.3 Populasi Penelitian	21
3.4 Sampel Penelitian.....	21
3.5 Variabel Penelitian	21
3.5.1 Variabel Bebas.....	22
3.5.2 Variabel Kontrol.....	22
3.5.3 Variabel Terikat.....	22
3.6 Metode Penelitian.....	22
3.6.1 Determinasi Tanaman.....	22
3.6.2 Kategori Pemilihan Sampel	22
3.6.3 Pembuatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS)	23
3.7 Skrining Fitokimia.....	23
3.7.1 Flavonoid.....	23
3.7.2 Tanin.....	23
3.7.3 Saponin	23
3.7.4 Terpenoid.....	24
3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS).....	24
3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	24
3.8.2 Pembuatan Larutan Kontrol Uji	24
3.8.3 Pembuatan Media <i>Nutrient Broth</i> (NB).....	25
3.8.4 Pembuatan Media <i>Nutrient Agar</i> (NA)	25
3.8.5 Peremajaan Bakteri.....	25
3.8.6 Pembuatan Suspensi Bakteri	25
3.8.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri	26
3.8.8 Pengukuran Zona Hambat	26
3.9 Analisis Data	26

3.9.1 Uji Normalitas Data.....	27
3.9.2 Uji Homogenitas.....	27
3.9.3 Uji <i>One Way Anova</i>	27
3.9.4 Uji <i>Post Hoc LSD</i>	28
3.9.5 Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	28
3.10 Kerangka Penelitian.....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Determinasi Tanaman	30
4.2 Pembuatan Kombinasi Ekstrak BWDS	30
4.3 Skrining Fitokimia.....	31
4.3.1`Flavonoid.....	32
4.3.2 Tanin.....	32
4.3.3 Saponin	33
4.3.4 Terpenoid.....	34
4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS.....	35
4.5 Analisis Data	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	5
Gambar 2.2 Daun Sirih (<i>Piper betle</i>)	7
Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid	8
Gambar 2.4 Struktur Kimia Tanin	9
Gambar 2.5 Struktur Kimia Saponin	10
Gambar 2.6 Struktur Kimia Terpenoid	10
Gambar 2.7 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	12
Gambar 2.8 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	13
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian.....	29
Gambar 4.1 Uji Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid.....	32
Gambar 4.2 Uji Skrining Fitokimia Senyawa Tanin	33
Gambar 4.3 Uji Skrining Fitokimia Saponin.....	34
Gambar 4.4 Uji Skrining Fitokimia Terpenoid	35
Gambar 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	37
Gambar 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	39

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Belimbing Wuluh	6
Tabel 2.2 Kategori Diameter Zona Hambat	17
Tabel 4.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Kombinasi Ekstrak BWDS.....	31
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	36
Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	38
Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	41
Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	42
Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	42
Tabel 4.7 Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	43
Tabel 4.8 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	43
Tabel 4.9 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	43
Tabel 4.10 Hasil Uji <i>Tukey</i> Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	44
Tabel 4.11 Hasil Uji <i>Tukey</i> Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	45



DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1	26
---------------------	----





BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan teknologi, banyak penyakit yang timbul di masyarakat. Salah satunya adalah penyakit yang disebabkan karena infeksi bakteri (Dwyana & Johannes, 2012). Bakteri yang menyebabkan infeksi diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen berbahaya yang dapat menyebabkan berbagai penyakit. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat merusak membran biologis dan menyebabkan kematian sel. *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi saluran pernafasan, infeksi kulit, pneumonia dan endokarditis (Otto, 2014). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang sering menyebabkan infeksi pada manusia dan hewan. *Escherichia coli* menjadi penyebab utama enteritis, infeksi saluran kemih, septikemia dan infeksi klinis lainnya seperti meningitis (Allocati *et al.*, 2013).

Pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan adanya antibiotik. Berbagai jenis antibiotik dari bahan sintetik telah banyak diproduksi. Namun, dengan munculnya beberapa mikroba yang resisten terhadap antibiotik, maka penggunaan antibiotik yang berasal dari bahan alam mulai banyak dilirik dan digunakan (Dwyana & Johannes, 2012). Tanaman yang memiliki kandungan sebagai antibakteri diantaranya adalah belimbing wuluh dan daun sirih.

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki beberapa khasiat, antara lain diabetes, batuk, rematik, gondongan, diare hingga tekanan darah tinggi (Maryam *et al.*, 2015). Buah belimbing wuluh mengandung senyawa kimia antara lain flavonoid, tannin, steroid/triterpenoid dan saponin yang memiliki efek sebagai antibakteri (Ferdyani *et al.*, 2020). Pada konsentrasi 1,6% ekstrak buah belimbing wuluh memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 13 mm sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* sebesar 10,33 mm (Maryam *et al.*, 2015).

Daun Sirih (*Piper betle L*) memiliki banyak manfaat untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti menghilangkan bau badan, sariawan, mimisan, batuk, pendarahan gusi dan keputihan (Bustanussalam *et al.*, 2015). Ekstrak daun

sirih berpotensi sebagai antibakteri, sebagai antioksidan (Jayalakshmi *et al.*, 2015) dan sebagai antiinflamasi (Noventi & Carolia, 2016). Senyawa aktif yang terkandung dalam daun sirih yaitu saponin, tanin, flavonoid dan fenol yang memiliki kemampuan dalam menghambat dan membunuh bakteri (Fathoni *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Bagus *et al.*, (2022) daya hambat ekstrak daun sirih dengan konsentrasi ekstrak 40% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 17,33 mm. Menurut Ayu dan Anthofani (2020) daya hambat ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 75% terhadap bakteri *Escherichia coli* sebesar 24 mm.

Penelitian mengenai kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan suhu 50°C telah dilakukan oleh Tilarso dkk (2022), namun belum dilakukan variasi konsentrasi pada penelitian tersebut, sehingga penelitian dengan variasi konsentrasi perlu dilakukan. Kombinasi antara buah belimbing wuluh dengan daun sirih bertujuan untuk mengetahui apakah aktivitas antibakterinya menjadi lebih kuat atau sebaliknya (Bagus *et al.*, 2022). Apabila dua agen mikroba bekerja secara bersamaan maka efeknya dapat berupa efek sinergis atau efek yang saling menguatkan daripada ekstrak tanaman tunggal (Jawetz *et al.*, 2012).

Teknik ekstraksi secara maserasi, soxhlet maupun hidrodistilasi menghasilkan antimikroba yang sangat efektif, namun teknik ini memerlukan pelarut yang sangat mahal, sehingga diperlukan teknik maserasi yang lebih ekonomis untuk menghemat biaya produksi dan mempermudah pengaplikasian di masyarakat. Metode hidroekstraksi merupakan salah satu alternatif ekstraksi yang mudah untuk dilakukan dengan menggunakan cara perebusan dan kukusan (Rahayu *et al.*, 2016).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian dengan aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari variasi konsentrasi ekstrak kombinasi buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan teknik hidroekstraksi sehingga diperoleh hasil ekstrak yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Bagaimana pengaruh konsentrasi pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?



1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengetahui pengaruh konsentrasi pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

1.3.2 Mengetahui konsentrasi optimum pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1.4.1 Sampel yang digunakan adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang diperoleh di kawasan Bendiljati Wetan Kecamatan Sumbergempol

1.4.2 Metode ekstraksi yaitu dengan menggunakan hidroekstraksi, pada suhu 50°C

1.4.3 Uji antibakteri yang dilakukan pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menggunakan metode difusi cakram

1.4.4 Identifikasi senyawa kimia dengan menggunakan skrining fitokimia.

1.5 Relevansi Penelitian

Penelitian ini memiliki relevansi dengan penelitian sebelumnya yaitu :

1.5.1 Penelitian oleh Dara Pranidya Tilarso, Anggun Maghfiroh, dan Kholifatul Jihan Amira pada tahun 2022 yang berjudul “Pengaruh Gelling Agent Pada Sediaan Serum Jerawat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau dan Buah Belimbing Wuluh”. Adapun hasil penelitiannya yaitu, ekstrak kombinasi daun sirih dan buah belimbing wuluh memiliki penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam kategori sedang, akan tetapi belum sebanding dengan kontrol positif yang menghasilkan zona hambat dalam kategori kuat.

1.5.2 Penelitian oleh Dara Pranidya Tilarso, Afidatul Muadifah, Windu Handaru, Putri Indah Pratiwi dan Mursyidah Lathifatul Khusna pada tahun 2022 yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Belimbing



Wuluh dengan Metode Hidroekstraksi". Adapun hasil penelitiannya yaitu, aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih dan belimbing wuluh pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas optimum pada suhu 50° dengan diameter 19,75 mm, merupakan respon pertumbuhan bakteri yang kuat dan 11,75 mm terhadap *Escherichia coli* merupakan respon pertumbuhan bakteri yang sedang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Super Divisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Dicotyledonae
Sub Kelas	:	Rosidae
Ordo	:	Geriales
Famili	:	Oxalidaceae
Genus	:	Averrhoa
Spesies	:	<i>Averrhoa bilimbi L.</i> (Kumar <i>et al.</i> , 2013)



Gambar 2.1 Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)
(Kumar *et al.*, 2013)

2.1.2 Morfologi Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) adalah salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional. Buah belimbing wuluh merupakan tanaman yang banyak tumbuh di pekarangan dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini tumbuh subur di Indonesia, Filipina, Sri Langka, Myanmar, dan Indonesia (Maryam *et al.*, 2015).

Buah belimbing wuluh berbentuk lonjong persegi, apabila diiris melintang akan berbentuk seperti bunga. Buahnya berwarna hijau, berukuran 4-10 cm. Kulit buah berwarna hijau mengkilap dan tipis (Medina *et al.*, 2014). Daun belimbing wuluh berwarna hijau dan permukaan bawah daunnya berwarna hijau muda. Anak daun belimbing wuluh bertangkai pendek, berbentuk bulat telur, tepiannya rata, panjang sekitar 2-4 cm dengan lebar 1-3 cm. Bunga belimbing wuluh berukuran kecil-kecil dengan bentuk bintang, berwarna ungu kemerahan. Bunganya berkelompok dan tumbuh keluar dari bagian batang atau percabangan yang besar (Fitriani, 2021).

2.1.3 Kandungan Kimia

Berdasarkan hasil analisis uji fitokimia yang telah dilakukan oleh Putriana (2018) menunjukkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid.

Tabel 2.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (Putriana, 2018).

Golongan Senyawa	Ekstrak Belimbing wuluh
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Kuinon	-
Steroid/Terpenoid	+

Keterangan :

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

2.2 Uraian Tanaman Sirih (*Piper betle*)

2.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi Sirih (*Piper betle*)

- | | |
|--------------|-----------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Subkingdom | : Tracheobionta |
| Super Divisi | : Angiospermae |
| Divisi | : Spermatophyta |
| Kelas | : Dicotyledonae |
| Sub Kelas | : Magnoliidae |



Watermarkly

Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper betle L.</i> (Putri et al., 2019)



Gambar 2.2 Daun Sirih (*Piper betle*)
(Putri et al., 2019)

2.2.2 Morfologi Daun Dirihi (*Piper betle*)

Sirih merupakan tanaman asli Indonesia yang banyak ditemukan di pekarangan rumah. Sirih banyak dibudidayakan di India, Bangladesh, Pakistan, Malaysia, Indonesia, Vietnam, Laos, Kampu-chea, Thailand, Myanmar dan Singapura. Secara turun temurun, daun sirih dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional seperti dakit pengobatan sakit gigi, batuk dan penyegar (Putri et al., 2019)

Sirih tumbuh merambat atau bersandar pada pohon lain. Tinggi tanaman sirih berkisar antara 5-15 m. Daun sirih berbentuk bundar telur atau bundar telur lonjong, pangkalnya berbentuk jantung atau agak bundar sedikit berlekuk. Daun berwarna hijau, permukaan atas rata, licin agak mengkilat, tulang daun agak tenggelam. Sirih memiliki bau aromatik yang khas serta rasanya pedas (Inayatullah, 2012).

2.2.3 Kandungan Kimia

Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun sirih diantaranya adalah saponin, tanin, flavonoid dan fenol yang memiliki kemampuan dalam menghambat dan membunuh bakteri (Fathoni et al., 2019).

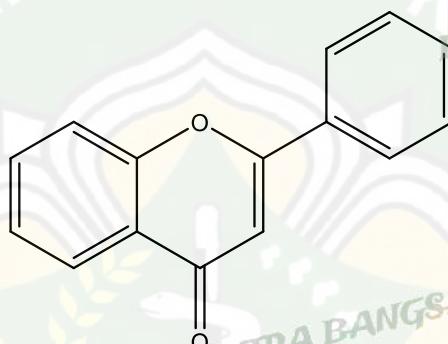
Komponen utama daun sirih terdiri dari betle phenol dan beberapa derivatnya antara lain eugenol allylpyrocatechine 26,8-42,5%, Cineol 2,4-4,8%, methyl eugenol 4,2-15,8%, Caryophyllen (Siskuiterpen) 3-9,8%, hidroksi kavikol, kavikol 7,2-

16,7%, kabivetol 2,7-6,2%, estragol, ilipyrokatol 9,6%, karvakol 2,2-5,6%, flavonoid, triterpenoid atau steroid, saponin, terpen, fenilpropan, terpinene, diastase 0,8-1,8%, dan tanin 1-1,3% (Inayatullah, 2012).

2.3 Kandungan Kimia pada Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS)

2.3.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang tersebar di dunia tumbuhan dan berfungsi sebagai pigmen tanaman. Fungsi dari flavonoid diantaranya adalah melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi dan antibiotik (Noer *et al.*, 2018).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid

(Arifin & Ibrahim, 2018)

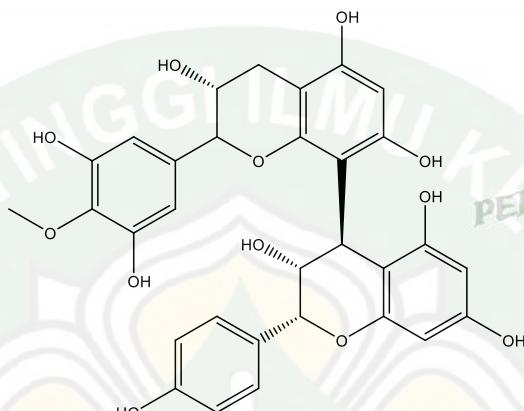
Flavonoid adalah metabolit sekunder yang bersifat polar karena tersebar luas pada tumbuhan berbentuk glikosida yang berikatan dengan gula. Flavonoid dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, air, metanol dan pelarut semi polar seperti etil asetat, maupun campuran pelarut yang dapat digunakan untuk menarik senyawa flavonoid dari suatu tanaman (Ekawati *et al.*, 2017).

Senyawa bioaktif yang terkandung di dalam flavonoid diduga memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri. Mekanisme senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid (Marfuah *et al.*, 2017). Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan mengubah permeabilitas dinding sel bakteri serta menghambat motilitas bakteri. Flavonoid bersifat bakteriostatik, akan tetapi pada konsentrasi tinggi dapat menjadi bakterisida pada gram negatif dan gram positif (Christabel *et al.*, 2019).



2.3.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa yang cenderung polar, sehingga mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, dan air (Astuti *et al.*, 2014). Pelarut tersebut dapat mengekstrak senyawa tanin secara optimal diduga karena besarnya konstana dielektrik dari pelarut yang dapat mengekstraksi senyawa tanin (Rafsanjani & Putri, 2015).



Gambar 2.4 Struktur Kimia Tanin

(Yusi, 2018)

Tanin merupakan salah satu senyawa aktif metabolit sekunder golongan polifenol yang dihasilkan oleh tanaman. Tanin adalah komponen zat organik yang sangat kompleks. Senyawa ini terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya serta bersenyawa dengan protein tersebut (Pratama *et al.*, 2019).

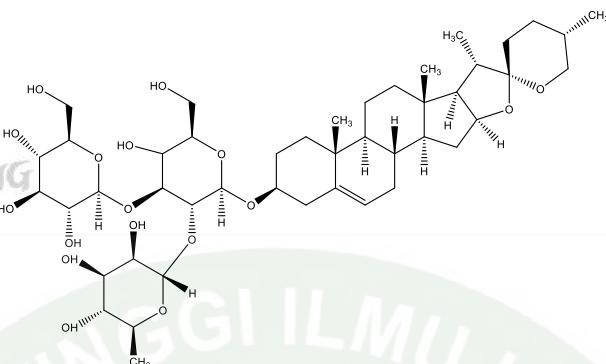
Tanin memiliki beberapa manfaat diantaranya adalah sebagai astringen, antidiare, antioksidan dan antibakteri (Fathurrahman & Musfiroh, 2018). Mekanisme tanin sebagai antibakteri dapat dilihat dari aksinya pada membran. Tanin mampu melewati membran sel karena tanin dapat berpresipitasi pada protein (Marfuah *et al.*, 2017).

2.3.3 Saponin

Saponin adalah glikosida yang berasal dari triterpenoid atau steroid karena adanya gugus gula (karbohidrat) dalam struktur saponin, sehingga kelarutan saponin dalam pelarut polar besar. Saponin dapat larut dalam air tetapi tidak larut dalam eter. Saponin bersifat polar sehingga dapat diekstraksi menggunakan pelarut



air dan pelarut organik jenis alkohol yang merupakan pelarut polar. Kepolaran air lebih besar dibandingkan dengan alkohol (Astuti *et al.*, 2014).



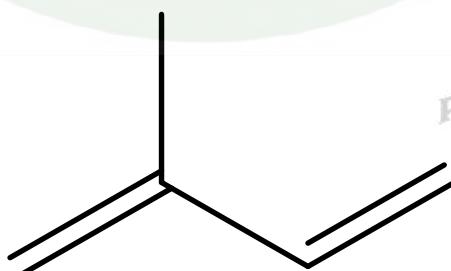
Gambar 2.5 Struktur Kimia Saponin

(Septiana *et al.*, 2012)

Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik berupa buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok akan terbentuk buih (Gunawan, 2018). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah dengan cara menurunkan tegangan permukaan, mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel sehingga mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Ngajow *et al.*, 2013).

2.3.4 Terpenoid

Terpenoid adalah kelas metabolit sekunder terbesar yang memiliki jenis senyawa yang beragam. Struktur terpenoid terdiri dari molekul linier hingga polisiklik, dengan ukuran dari hemiterpene berunit lima karbon hingga karet yang memiliki ribuan unit isoprene. Berdasarkan jumlah isoprene, terpenoid diklasifikasikan menjadi hemiterpene, monoterpene, sesquiterpene, diterpene, triterpene, tetraterpene dan politerpen (Hartati *et al.*, 2016).



Gambar 2.6 Struktur Kimia Terpenoid

(Septiana *et al.*, 2012)

Terpenoid merupakan senyawa yang memiliki bagian polar dan non polar, akan tetapi bagian non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan dengan bagian polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar. Terpenoid dalam pelarut polar diduga berada dalam bentuk globula dengan bagian luar komponen ekstrak yang bersifat polar (Septiana *et al.*, 2012).

Terpenoid memiliki aktivitas farmakologi yang signifikan, diantaranya adalah sebagai antiviral, antiinflamasi, antikanker, sebagai inhibisi terhadap kolesterol dan sebagai antibakteri (Balafif *et al.*, 2013). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan purin yang terdapat pada membran luar sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan kerusakan purin (Arlofa, 2015).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Zat terlarut yang diekstrak pada umumnya bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditemukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Inayatullah, 2012).

2.4.2 Hidroekstraksi

Hidroekstraksi adalah salah satu metode alternatif ekstraksi menggunakan air panas dengan cara perebusan dan kukusan (Rahayu *et al.*, 2016). Hidroekstraksi merupakan proses isolasi menggunakan air sebagai katalis dan temperatur sebagai tekanan. Jadi, hidroekstraksi adalah metode ekstraksi yang melibatkan air dan tekanan suhu (*high temperature short time/HTST*) dengan akudas sebagai media pindah panas (Kolanus *et al.*, 2019). Pada teknik ekstraksi air panas menggunakan temperatur 40-60°C yang menghasilkan hambatan pada pertumbuhan bakteri (Rahayu *et al.*, 2016).



2.5 Bakteri

2.5.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.5.1.1 Klasifikasi

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Ordo	: Bacillales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Lenny, 2016)

2.5.1.2 Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang memiliki bentuk bulat dan berdiameter antara 0,7-1,2 μm . Bakteri ini tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. *Staphylococcus aureus* termasuk ke dalam bakteri yang paling kuat daya tahannya berdasarkan bakteri yang tidak membentuk spora (Toelle & Lenda, 2014).



Gambar 2.7 Bakteri *Staphylococcus aureus*

(Toelle & Lenda, 2014)

Staphylococcus aureus mampu hidup sampai berbulan-bulan dalam media agar miring, baik dalam lemari es maupun pada suhu kamar. Sedangkan dalam keadaan kering pada benang, kertas, kain dan dalam nanah, *Staphylococcus aureus* dapat tetap hidup selama 6-14 minggu (Toelle & Lenda, 2014).

Staphylococcus aureus tahan terhadap panas sampai setinggi 50°C, kadar garam yang tinggi, dan tahan kekeringan. Koloni Staphylococci berukuran besar



Watermarkly

dengan garis tengah 6-8 mm, dan berwarna bening. Banyak strain koloni bakteri ini membentuk pigemen berwarna kuning gading atau jingga (Nadira, 2018). *Staphylococcus aureus* bersifat katalase positif dan mengadakan fermentasi terhadap manitol. Pada *Mannitol Salt Agar* (MSA) fermentasi manitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan produk sampingan bersifat asam yang menurunkan pH, merah fenol, berubah warna menjadi kuning (Soedarto, 2015).

2.5.2 Bakteri *Eschericia coli*

2.5.2.1 Klasifikasi

Kingdom	:	Bacteria
Filum	:	Proteobacteria
Kelas	:	Gammaproteobacteria
Ordo	:	Enterobacteriales
Famili	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	Escherichia
Spesies	:	<i>Escherichia coli</i> (Abidha, 2019)

2.5.2.2 Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang tidak berspora, motil berbentuk flagel peritik, berdiameter $\pm 1,1\text{-}1,5 \mu\text{m}$ x $0,2\text{-}0,6 \mu\text{m}$. *Escherichia coli* dapat bertahan hidup di medium sederhana yang menghasilkan gas dan asam dari glukosa dan memfermentasi laktosa (Lestari, 2021).



Gambar 2.8 Bakteri *Eschericia coli* (Rahayu et al., 2017)

Escherichia coli termasuk ke dalam anggota family *Enterobacteriaceae*. Selnya berbentuk seperti coocal hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. *Escherichia coli* memiliki sel yang bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam

rantai pendek, biasanya tidak berkapslu, bakteri ini aerobik dan dapat juga aerobik fakultatif (Astuti, 2018).

Escherichia coli adalah flora normal yang hidup komensal di dalam colon manusia dan diduga membantu pembuatan vitamin K yang penting untuk pembekuan darah. *Escherichia coli* pada umumnya berdiam pada saluran usus manusia. Bakteri ini biasanya tidak bersifat pathogen, akan tetapi menjadi penyebab infeksi saluran kemih dan diare (Tortora, 2013).

2.6 Antibakteri

Antimikroba merupakan zat yang mampu menghambat pertumbuhan atau metabolisme mikroba. Berdasarkan aktivitasnya, antimikroba dapat dibedakan menjadi 2 yaitu, bakteriostatik atau menghambat pertumbuhan bakteri dan bakterisidal atau membunuh bakteri (Saskiawan & Hasanah, 2015).

Menurut Fione & Karamoy (2022) antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan suatu bakteri dengan cara mengganggu metabolism mikroba yang merugikan. Mikroorganisme dapat menyebabkan penyakit karena kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak bahan pangan. Antibakteri masuk ke dalam golongan antimikroba yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

2.7 Mekanisme Kerja Antibakteri

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu

1. Menghambat metabolisme sel bakteri

Mikroba membutuhkan asam folat agar dapat bertahan hidup. Asam folat yang dibutuhkan diperoleh dari hasil sintesis asam amino benzoate (PABA). Contoh obat yang bekerja menghambat metabolisme adalah sulfonamida, yang akan bersaing dengan PABA dalam menghasilkan analog asam folat nonfungsional sehingga pertumbuhan sel mikroba akan terhambat (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

2. Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel mikroba terdiri dari peptidoglikan. Tekanan osmotik intra sel lebih tinggi dibandingkan dengan ekstra sel karena golongan antibiotik mampu menghambat sintesis dinding sel yang bersifat



bakterisidal. Penisilin merupakan salah satu obat yang bekerja menghambat reaksi pembentukan dinding sel pada tahap transpeptidase (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

3. Mengganggu keutuhan membran sel bakteri

Antimikroba yang mengandung senyawa ammonium-kuartener apabila bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid maka dapat merusak membrane sel. Hal tersebut mengakibatkan protein, asam nukleat dan lain-lain akan keluar dari sel mikroba. Contoh golongan obat yang bekerja mengganggu keutuhan membrane sel adalah polimiksin (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

4. Menghambat sintesis protein sel bakteri

Sel mikroba mensintesis berbagai protein yang terdapat di ribosom dengan bantuan tRNA dan mRNA. Setiap ribosom terdiri dari dua subunit yaitu ribosom 30S dan ribosom 50S. Kedua ribosom tersebut akan bersatu menjadi ribosom 70S yang dapat mensintesis protein. Streptomisin adalah obat yang berikatan dengan komponen ribosom 30S yang menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA saat sintesis protein sehingga terjadi pembentukan protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Sedangkan obat yang berikatan dengan ribosom 50S diantaranya adalah golongan eritromisin, linkomisin, dan kloramfenikol (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

5. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Rifampisin dan quinolone merupakan antimikroba yang bekerja menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba. Rifampisin berikatan dengan enzim polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA sel mikroba (Purnamaningsih *et al.*, 2017).

2.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien dengan melibatkan hasil metabolisme sekunder. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (Kusumawati, 2016).



2.8.1 Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode yang digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji terhadap agen antimikroba (Fitriana *et al.*, 2020). Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Ernawati & Budiana, 2016). Metode difusi terdiri dari 3 cara yaitu metode sumuran, metode cakram dan metode silinder.

2.8.1.1 Metode Sumuran

Metode sumuran dibuat dengan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan berdasarkan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusumawati, 2016).

Kelebihan dari metode sumuran adalah lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrient agar tetapi juga sampai ke bawah. Sedangkan kesulitan dari metode sumuran adalah adanya sisa-sisa agar pada suatu media yang digunakan untuk membuat sumuran (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.8.1.2 Metode Cakram

Metode cakram adalah metode yang dilakukan dengan cara kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Kertas cakram kemudian diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, lalu diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 35°C. Area atau zona bening diamati dengan ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba. Diameter area atau zona bening sebanding dengan jumlah mikroba uji yang ditambahkan pada kertas cakram. Kelebihan dari metode cakram adalah dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram (Nurhayati *et al.*, 2020).



Tabel 2.2 Kategori Diameter Zona Hambat (Surjowardjo *et al.*, 2015)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

2.8.1.3 Metode Silinder

Metode silinder adalah metode yang dilakukan dengan cara meletakkan beberapa silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat yang diletakkan di atas medium agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Tiap silinder ditempatkan hingga berdiri di atas medium agar, diisi dengan larutan yang kemudian diuji dan diinkubasi. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling silinder menggunakan jangka sorong dengan satuan mm (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.8.2 Metode Pengenceran

Prinsip dari metode pengenceran adalah pengenceran senyawa antibakteri hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Masing-masing konsentrasi kemudian ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair (Ernawati & Budiana, 2016). Hal tersebut memungkinkan terjadinya interaksi yang homogen antara larutan uji dengan suspensi bakteri sehingga penghambatan terhadap bakteri bisa lebih sensitif. Kelebihan dari metode pengenceran adalah penggunaan media dan bahan uji lebih hemat dan tidak dipengaruhi oleh tebal tipisnya media. Parameter yang digunakan adalah Kadar Bunuh Minimum (KBM). Kadar Bunuh Minimum (KBM) diketahui dengan penggoresan larutan uji di media padat sehingga dapat diketahui aktivitas antibakteri (Wardhani & Sulistyani, 2012).

2.9 Pelarut

Cairan pelarut dalam pembuatan ekstrak merupakan pelarut yang optimal untuk senyawa kandungan yang berkhasiat, senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Lutfita, 2012). Hal-hal yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan cairan pelarut atau penyari antara lain murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar,



selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, ramah terhadap lingkungan, ekonomis, aman untuk digunakan, kemudahan dalam bekerja dan proses dengan pelarut tersebut serta diperbolehkan oleh peraturan yang berlaku (DepKes RI, 2000).

2.9.1 Aquadest atau Air

Air memiliki bahasa latin *aquadestilata* yang berarti air suling. Air suling merupakan air yang diperoleh dari pengembunan uap air yang diakibatkan oleh penguapan atau pendidihan air. Air adalah senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau, bersifat polar dan tidak memiliki rasa serta memiliki titik didih 100°C. Air merupakan pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba. Air mampu melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang memiliki aktivitas antioksidan (Charisma, 2020).

Air merupakan pelarut yang memiliki harga murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap, dan tidak beracun. Kerugian dari pelarut adalah tidak dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, ekstrak dapat ditumbuhkapang sehingga lebih mudah rusak dan memerlukan waktu pengeringan ekstrak dalam jangka waktu yang lama. Air dapat melarutkan glikosida, tanin, gom, pati, protein, dan asam organik (DepKes RI, 1986).

Aquadest juga dapat digunakan sebagai kontrol negatif. Fungsi dari kontrol negatif adalah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri, sehingga dapat diketahui bahwa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut (Febrianasari, 2018). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Aida (2016) pada kertas saring yang telah menyerap aquadest sebagai kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat karena aquadest tidak memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

2.10 Obat Antibakteri Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik yang digunakan untuk megatasi infeksi bakteri serius yang bekerja dengan cara membunuh bakteri yang menjangkit di dalam tubuh dan mencegahnya tumbuh kembali (Fitriana *et al.*, 2020). Kloramfenikol mampu menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptide yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim peptidil transferase.



Kloramfenikol bersifat bateriostatik dan bakteri dapat tumbuh kembali apabila pengaruh obat dihilangkan (Charisma, 2020).

Dalam pengujian aktivitas antibakteri kloramfenikol digunakan sebagai standar kontrol positif. Kloramfenikol berfungsi sebagai pembanding karena merupakan jenis antibiotik yang memiliki spektrum luas, yaitu dapat menghambat pertumbuhan gram positif dan gram negatif (Noviyanti *et al.*, 2014). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Gurning (2020) kloramfenikol memiliki daya hambat antibakteri yang sangat kuat, yaitu dengan diameter zona hambat 14,3 mm. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki mekanisme yang sama dengan kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri (Rijayanti, 2014).

Karakteristik kloramfenikol menurut FI IV adalah sebagai berikut :

Nama Umum : Kloramfenikol

Nama Lain : *Chloramphenicolum*

Nama Kimia : *D(-)treo-2-diklorosetaminido-1-p-itrofenilpropana-1,3diol*

Suhu Lebur : 149°C - 153°C

Pemerian : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; larutan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau agak asam.

Kelarutan : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilenglikol, dalam aseton dan dalam etil asetat

Persyaratan tidak : Pada setiap kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket.



2.11 Hipotesis

- 2.11.1 Terdapat pengaruh konsentrasi pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*
- 2.11.2 Terdapat konsentrasi optimum pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat terbesar (Ariyani *et al.*, 2018).

BAB III

METODOLOGI

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian diantaranya yaitu buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), daun sirih (*Piper betle*), aquadestilata (Brataco), *nutrient agar* (NA) (Merck), *nutrient broth* (NB) (Merck), pereaksi mayer (Merck), pereaksi dragendroff (Merck), asam klorida pekat (HCL P) (Merck), besi (III) klorida (FeCl_3) (Merck), etil asetat ($\text{C}_4 \text{ H}_8 \text{O}_2$) (Merck), asam asetat anhidrat ($\text{C}_4 \text{ H}_6 \text{O}_3$) (Merck), asam sulfat pekat ($\text{H}_2 \text{SO}_4$) (Merck), air panas, asam klorida (HCL) (Merck).

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu seperangkat alat gelas (Pyrex), corong pisah (Pyrex), batang pengaduk, pisau, telenan, kain penyari, kompor, panci, termometer, cawan petri, pipet tetes, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, magnetic stirrer with heather 79-1, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), lemari pendingin (Sharp), timbangan analitik (Kenko), spiritus, plat tetes, ose steril, kaki tiga.

3.3 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang terdapat di Desa Bendiljati Wetan, Kecamatan Sumbergempol.

3.4 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*), diambil menggunakan metode *simple random sampling*. *Simple random sampling* merupakan metode pengambilan sampel secara acak dari suatu populasi tanpa memperhatikan strata yang terdapat di dalam populasi (Sugiyono, 2015).

3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti dalam bentuk apapun sebagai suatu hal yang digunakan untuk dipelajari sehingga dapat diperoleh suatu informasi tentang hal-hal tersebut untuk diambil kesimpulannya

(Sugiyono, 2016). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas, variable kontrol dan variabel terikat.

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahan atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2016). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat dengan konstan sehingga hubungan antara variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang diteliti (Ridha, 2017). Variabel kontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah metode hidroekstraksi dan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi oleh adanya variabel bebas (Sugiyono, 2016). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu serta daya hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.6 Metode Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran jenis tanaman. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Herbal Materia Medika.

3.6.2 Kategori Pemilihan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang didapatkan dari Desa Bendiljati Wetan, Kecamatan Sumbergempol. Cara pemilihan buah belimbing wuluh adalah dipilih buah berwarna hijau segar dan tidak ada kerusakan pada buah. Sedangkan untuk daun sirih dipilih daun yang berwarna hijau segar, bentuknya sempurna dan tidak cacat (Suci *et al.*, 2019).



3.6.3 Pembuatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS)

Tahapan pembuatan ekstrak diawali dengan pengumpulan buah belimbing wuluh dan daun sirih, lalu dilakukan penyortiran. Kemudian dilakukan sortasi basah menggunakan air mengalir, lalu ditiriskan hingga kering. Setelah itu, dilakukan pemotongan bahan \pm 0,5 cm. Bahan yang telah dipotong ditimbang seberat 100 gram.

Pada metode rebus, air disiapkan sebanyak 100 ml lalu dipanaskan di atas *waterbath* dengan pengaturan suhu 50°C. Menggunakan suhu 50°C karena metode hidroekstraksi menghasilkan zona hambat yang optimum terhadap bakteri pada suhu 50°C (Tilarso *et al.*, 2022). Setelah itu, ditambahkan sampel yang telah dipotong sebanyak 100 gram dan ditunggu selama \pm 30 menit, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan plastik kasa untuk penyaringan pertama dan untuk penyaringan kedua menggunakan kertas saring (Rahayu *et al.*, 2017).

3.7 Skrining Fitokimia

3.7.1 Flavonoid

Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 gram, kemudian ditambahkan HCL pekat dan dipanaskan menggunakan penangas air selama \pm 15 menit. Apabila terjadi perubahan warna kuning atau merah dapat dikatakan positif mengandung flavonoid (kalkon, flavon, dan aeron) (Mutmainnah, 2017).

3.7.2 Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didihkan selama 5 menit dan filtratnya ditambahkan FeCl₃ 3-4 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau (Muthmainnah, 2017).

3.7.3 Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 10 mL air panas, kemudian dinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Apabila timbul buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang 10 menit maka positif mengandung saponin dan pada penambahan HCl 2N, buih tidak hilang (Muthmainnah, 2017).



3.7.4 Terpenoid

Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat kemudian diambil lalu diteteskan pada plat tetes dan dibiarkan hingga kering. Setelah kering ditambahkan dengan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna merah atau kuning dikatakan positif mengandung terpenoid, dan apabila terbentuk warna hijau dikatakan positif mengandung steroid (Mutmainnah, 2017).

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS)

3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan proses pembebasan suatu material bahan ataupun alat dari berbagai mikroorganisme hidup. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi menggunakan erlenmeyer dengan mulut ditutup menggunakan kapas yang telah dilapisi aluminium foil (Astuty & Wibriono, 2022).

3.8.2 Pembuatan Larutan Kontrol Uji

3.8.2.1 Pembuatan Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS)

Larutan uji kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih dibuat dengan menggunakan perbandingan 1:1 (15 mL:15 mL). Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% (b/v) dengan suhu 50°C. Konsentrasi 10% dibuat dengan cara 1 mL ekstrak kombinasi dilarutkan ke dalam aquadest sebanyak 9 mL, konsentrasi 20% dibuat dengan cara 2 mL ekstrak kombinasi dilarutkan ke dalam 8 mL aquadest, begitu seterusnya hingga konsentrasi 100% dibuat dengan 10 mL ekstrak kombinasi tanpa dilarutkan dengan aquadest.

3.8.2.2 Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan antibiotik yang beredar di pasaran, yaitu kloramfenikol 500 mg dengan konsentrasi 1% (Kumayas, 2015).



3.8.2.3 Kontrol Negatif

Pada kontrol negatif menggunakan aquadest. Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, sehingga dapat diketahui bahwa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah zat uji bukan pelarut (Abubakar *et al.*, 2019).

3.8.3 Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)

Menimbang 0,32 gram *nutrient broth* kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 40 mL aquadest, lalu dipanaskan di atas *magnetic stirrer* hingga mendidih dan media berwarna bening. Media disterilisasi dengan cara bagian mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media steril lalu dituang ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan plastik wrap (Misna & Diana, 2016).

3.8.4 Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Menimbang seberat 2,4 gram *nutrient agar* kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 120 mL aquadest, lalu dipanaskan di atas *magnetic stirrer* hingga mendidih dan media berwarna bening. Media disterilisasi dengan cara bagian mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media steril lalu dituang ke dalam cawan petri steril secara aseptis (Misna & Diana, 2016)

3.8.5 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri adalah cara yang digunakan untuk merawat bakteri agar tetap baik. Peremajaan dilakukan dengan media miring NA menggunakan metode gores (Yusriana *et al.*, 2014). Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil satu ose kemudian diinokulasi dengan cara digoreskan pada media NA secara aseptik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Wihansah *et al.*, 2018).

3.8.6 Pembuatan Suspensi Bakteri

Diambil satu ose bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* hasil peremajaan, kemudian disuspensikan ke dalam media NB sebanyak 10 mL lalu dihomogenkan sampai tingkat kekeruhannya sesuai dengan standar. Kekeruhan dapat dilihat berdasarkan latar belakang kertas putih yang telah digaris menggunakan spidol. Jika kurang keruh ditambahkan koloni bakteri dan apabila



terlalu keruh maka ditambahkan media NB. Pada setiap penutup tabung dilapisi dengan plastik wrap untuk mencegah kontaminasi. Tabung yang telah ditambahkan bakteri diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Wihansah *et al.*, 2018).

3.8.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Kapas lidi steril dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi suspensi bakteri. Kapas lidi steril kemudian digoreskan merata pada media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kertas cakram dicelupkan ke dalam kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% (b/v). Larutan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Kertas cakram kemudian ditempelkan pada masing-masing media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter daerah hambat diamati dan dihitung menggunakan penggaris atau jangka sorong (Tilarso *et al.*, 2022).

3.8.8 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong. Hasil yang diperoleh dari pengukuran zona hambat yaitu berupa diameter (mm) daerah hambatan pertumbuhan mikroba termasuk diameter dari kertas cakram. Hasil akurasi data diperoleh dengan pengukuran sebanyak 3 kali pada tiap daerah hambatan dari arah yang berbeda (Yusriana *et al.*, 2014).

Perhitungan diameter zona hambat menurut Wenda (2017) adalah sebagai berikut :

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(DV-DC)+(DH-DC)}{2} \quad (\text{Persamaan 3.1})$$

Keterangan :

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horizontal

DC : Diameter cakram

3.9 Analisis Data

Data hasil uji aktivitas kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*



Watermarkly

Staphylococcus aureus dan *Escherichia coli* dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS versi 24. Pengolahan data sebagai berikut:

3.9.1 Uji Normalitas Data

Uji normalitas bertujuan untuk memperlihatkan bahwa data yang dilakukan memiliki distribusi normal atau tidak (Febrianasari, 2018). Uji *Kolmogorov Smirnov* pada penelitian ini digunakan sebagai uji normalitas data.

Perumusan hipotesis:

H_0 : data berdistribusi normal

H_1 : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan keputusan:

Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.9.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui apakah data bersifat homogen atau tidak. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan uji *Levene*. Setelah uji Levene kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

Perumusan hipotesis:

H_0 : data yang didapat memiliki variasi yang sama atau homogen

H_1 : data yang didapat memiliki variasi yang berbeda atau tidak homogen

Pengambilan keputusan:

Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

3.9.3 Uji One Way Anova

Uji *One Way Anova* adalah uji yang bertujuan untuk membandingkan lebih dari dua rata-rata sampel (Pratama & Permatasari, 2021).

Perumusan Hipotesis

H_0 : tidak ada pengaruh variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*



H_1 : ada pengaruh variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Pengambilan Keputusan

Jika $p > 0,05$; maka H_0 diterima

Jika $p \leq 0,05$; maka H_1 diterima

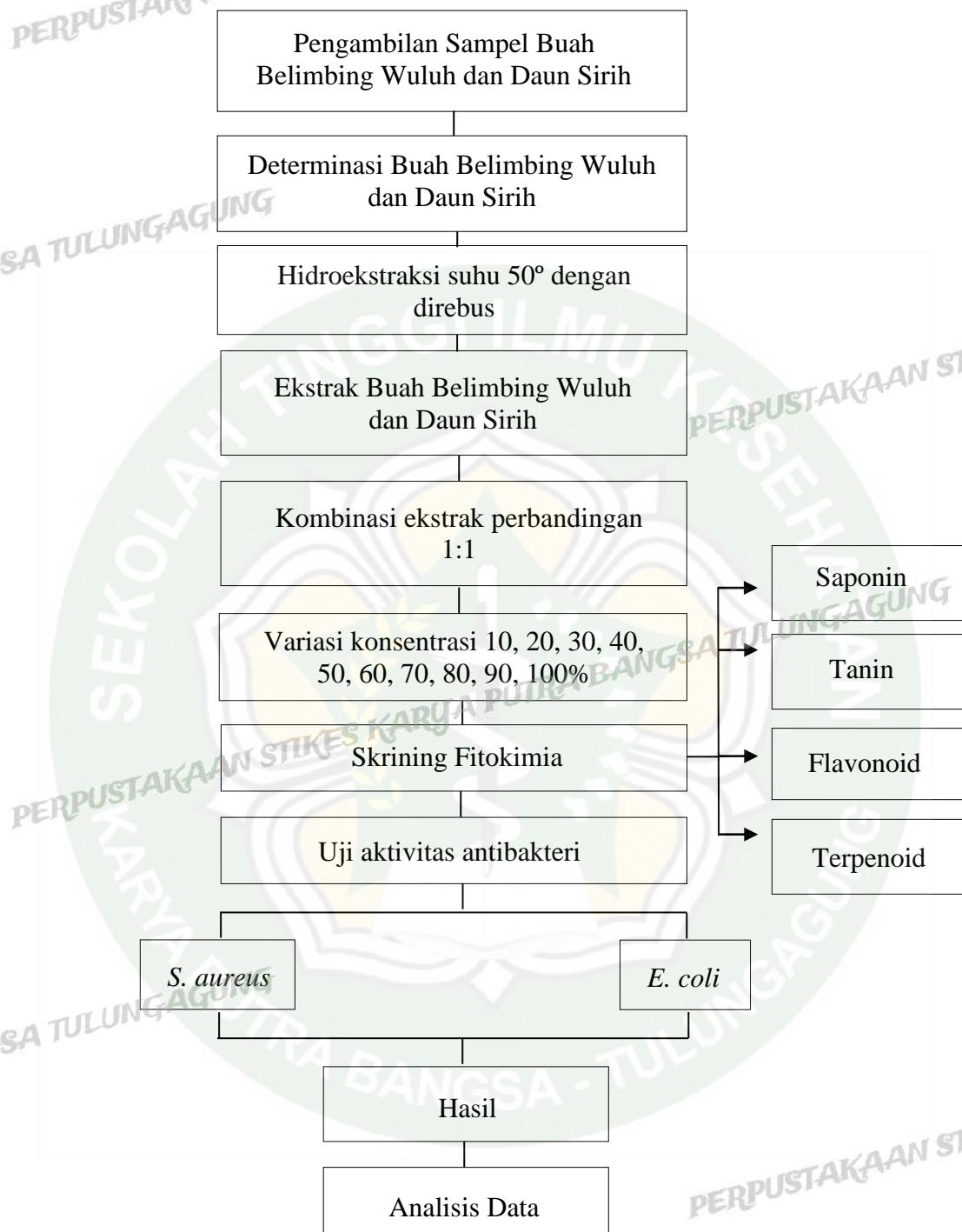
3.9.4 Uji Post Hoc LSD

Uji *Post Hoc* bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan rata-rata secara detail. Uji ini merupakan lanjutan dari uji *Anova*. Uji *Post Hoc* yang dilakukan pada penelitian ini adalah LSD (*Least Significance Different*). LSD (*Least Significance Different*) digunakan sebagai acuan untuk menentukan rata-rata dua perlakuan yang berbeda secara signifikan.

3.9.5 Uji Kruskal-Wallis

Pengujian menggunakan *Kruskal-Wallis* dilakukan apabila data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen. Uji *Kruskal-Wallis* bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

3.10 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian



Watermarkly

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman belimbing wuluh dan daun sirih dilakukan di UPT Laboratorium Materia Medica, Batu. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan merupakan tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b: Oxalidaceae-a: Averrhoa-1b: *A.bilimbi*. dan tanaman daun sirih (*Piper betle*) dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64a: Piperaceae-1a: *P.betle*.

Surat hasil determinasi tanaman belimbing wuluh terdapat pada **Lampiran 1**. menunjukkan morfologi habitus: Pohon, tinggi 5-10 m. Batang: Tegak, bercabang-cabang, permukaan kasar, banyak tonjolan, hijau kotor. Buah: Buni, bulat, panjang 4-6 cm, hijau kekuningan. Biji: Lanset atau segi tiga, masih muda hijau setelah tua kuning kehijauan. Berdasarkan surat hasil determinasi dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman belimbing wuluh.

Surat hasil determinasi tanaman daun sirih terdapat pada **Lampiran 2**. menunjukkan morfologi habitus: Perdu, merambat. Batang: Berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur, hijau. Daun: Tunggal, bulat panjang, pangkal bentuk jantung, ujung meruncing, tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, bertangkai, permukaan halus, pertulangan menyirip, hijau, hijau tua. Berdasarkan surat hasil determinasi dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman daun sirih.

4.2 Pembuatan Kombinasi Ekstrak BWDS

Pembuatan kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menggunakan metode hidroekstraksi. Metode hidroekstraksi digunakan karena metode ini lebih mudah diaplikasikan di masyarakat. Selain itu, metode hidroekstraksi merupakan salah satu metode alternatif ekstraksi yang lebih ekonomis sehingga mampu menghemat biaya produksi. Hidroekstraksi bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin pada tanaman sehingga ekstrak memiliki potensi

antimikroba (Rahayu *et al.*, 2016). Hidroekstraksi dilakukan dengan menimbang masing-masing bahan sebanyak 100 gram kemudian direbus menggunakan air sebanyak 100 mL di atas *waterbath* dengan pengaturan suhu 50°C selama ± 30 menit. Pemilihan pelarut aquadest karena bersifat polar dan tidak memiliki rasa serta memiliki titik didih 100°C. Aquadest merupakan pelarut universal yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba (Charisma, 2020). Filtrat yang terbentuk kemudian disaring menggunakan kain penyari. Masing-masing ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih kemudian dilakukan kombinasi dengan perbandingan 1:1. Setelah dikombinasi, ekstrak dilakukan variasi konsentrasi sesuai dengan perhitungan yang terdapat pada Lampiran 4.

4.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dari kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hasil uji skrining fitokimia kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.1

Tabel 4.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Kombinasi Ekstrak BWDS

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil
Flavonoid	HCl Pekat	Merah	+
Saponin	Air panas + HCl 1N	Busa stabil	+
Tanin	FeCl ₃	Hijau kehitaman	+
Terpenoid	C ₄ H ₈ O ₂ + C ₄ H ₆ O ₃ + H ₂ HSO ₄	Merah	+

Keterangan: (+) terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak kombinasi buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*)



konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.

4.3.1 Flavonoid

Hasil uji skrining flavonoid pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol yang memiliki banyak gugus -OH dan perbedaan kelistronegatifan yang tinggi, sehingga bersifat polar (Ikalinus *et al.*, 2015).



Gambar 4.1 Uji Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

Keterangan: (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Flavonoid

Sampel dinyatakan positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah dikarenakan HCl pekat atau secara umum bersifat asam kuat akan men hidrolisis dan mengubah antosianin menjadi antosianidin sehingga nantinya akan membentuk warna merah. Proses pemanasan pada tabung berfungsi untuk mempercepat terjadinya reaksi tersebut (Ichsan *et al.*, 2021).

4.3.2 Tanin

Hasil uji skrining tanin pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Tujuan dari penggunaan FeCl_3 adalah untuk mengetahui apakah sampel mengandung gugus fenol. Jika hasil dari uji fitokimia dengan FeCl_3 menunjukkan hasil yang positif

maka dalam sampel dimungkinkan terdapat senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin, karena tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina *et al.*, 2014).



Gambar 4.2 Uji Skrining Fitokimia Senyawa Tanin

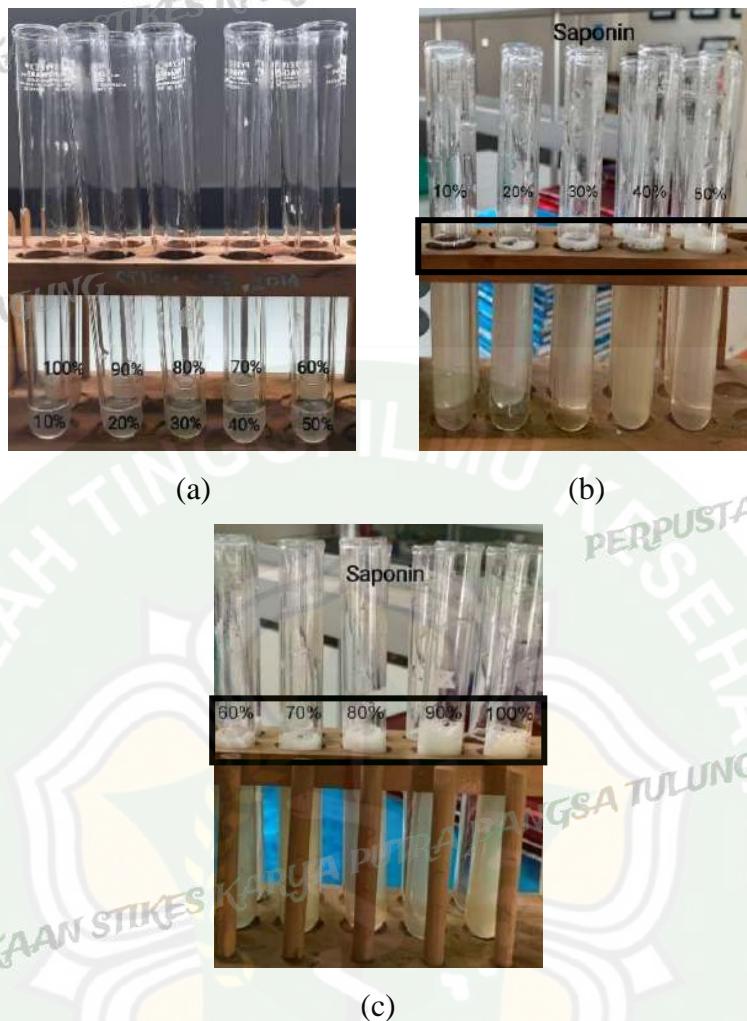
Keterangan: (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Tanin

Hasil uji fitokimia ekstrak kombinasi buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman karena reaksi antara tanin yang membentuk senyawa kompleks dengan Fe^{3+} . Senyawa kompleks antara tanin dan FeCl_3 dapat terbentuk karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang memiliki pasangan elektron bebas yang mampu mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya (Ergina *et al.*, 2014).

4.3.3 Saponin

Hasil uji skrining saponin pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa stabil. Saponin adalah senyawa aktif yang permukaannya mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. (Sulistyarini *et al.*, 2020).



Gambar 4.3 Uji Skrining Fitokimia Saponin

Keterangan: (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Saponin

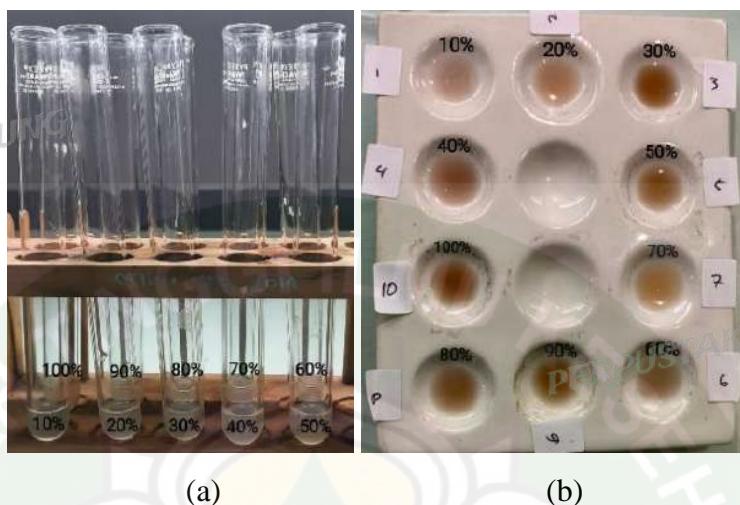
(c) Skrining Saponin

Timbulnya busa disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian bersifat *hidrofilik* dan *hidrofobik* yang berfungsi sebagai surfaktan yang mampu menurunkan tegangan permukaan. Ketika digojok, gugus hidrofil akan berikatan dengan air dan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga mampu membentuk buih (Sulistyarini *et al.*, 2020).

4.3.4 Terpenoid

Hasil uji skrining terpenoid pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Adanya senyawa terpenoid pada

ekstrak disebabkan karena terpenoid merupakan senyawa non polar yang tidak mudah larut dalam air dikarenakan air merupakan senyawa yang bersifat polar (Sulistyarini *et al.*, 2020).



Gambar 4.4 Uji Skrining Fitokimia Terpenoid

Keterangan: (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Terpenoid

Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil, sedangkan penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil membentuk larutan warna. Perubahan warna disebabkan karena adanya oksidasi pada senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Sulistyarini *et al.*, 2020).

4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 dilakukan di Kampus STIKes Karya Putra Bangsa, Laboratorium Mikrobiologi, Tulungagung. Uji aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Hasil pengukuran zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada Tabel 4.2

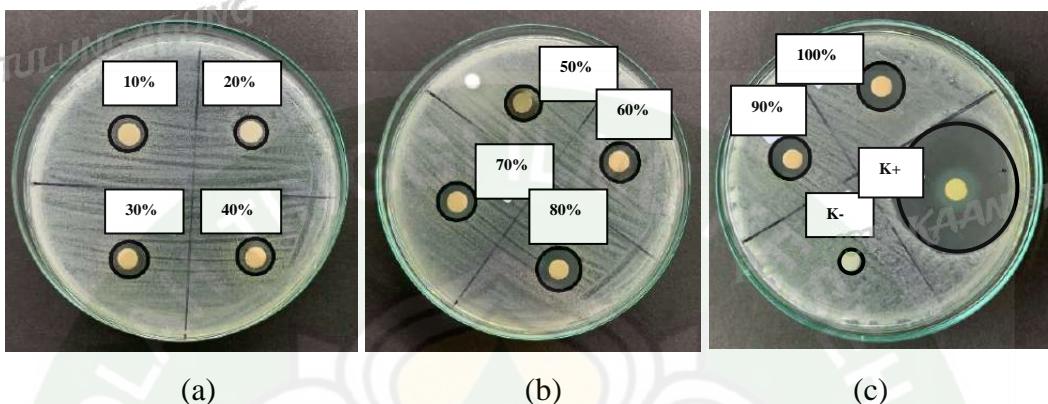
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Konsentrasi	Rata-Rata Zona	Kategori Respon
	Hambat (mm)	Hambat
10%	3 mm	Lemah
20%	1,83 mm	Lemah
30%	7,83 mm	Sedang
40%	7,83 mm	Sedang
50%	8,83 mm	Sedang
60%	9,5 mm	Sedang
70%	9,5 mm	Sedang
80%	10,67 mm	Sedang
90%	10,67 mm	Sedang
100%	11,5 mm	Kuat
K+	11,67 mm	Kuat
(Kloramfenikol)		
K-	0,00 mm	Tidak menghambat
(Aquades)		

Berdasarkan penelitian Suryowardojo *et al* (2015) menjelaskan bahwa diameter zona hambat ≤ 5 mm memiliki respon hambatan lemah, diameter zona hambat 6-10 mm memiliki respon hambatan sedang, diameter zona hambat 11-20 mm memiliki respon hambatan kuat, dan diameter zona hambat ≥ 21 mm memiliki respon hambatan sangat kuat. Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) dengan menggunakan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pada Tabel 4.2 dapat dilihat bahwa diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki nilai dan kriteria kekuatan antibakteri yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih mengandung zat

antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pada konsentrasi 10% dan 20% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori lemah. Konsentrasi 30%-90% termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang, dan pada konsentrasi 100% termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat.



Gambar 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Keterangan: (a) Konsentrasi 10%-40%

(b) Konsentrasi 50%-80%

(c) Konsentrasi 90%, 100%, Kontrol Positif, Kontrol Negatif

Pada Tabel 4.2 terlihat bahwa konsentrasi yang memiliki nilai diameter zona hambat paling besar adalah pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat mencapai 11,67 mm sedangkan untuk zona hambat yang paling kecil yaitu 1,83 mm pada konsentrasi ekstrak 20%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kulla (2022) menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar. Namun, apabila diperhatikan pada konsentrasi terendah 10% zona hambat yang terbentuk sebesar 3 mm. Hal tersebut belum sesuai dengan teori dan dapat disebabkan karena pelarut yang digunakan, yaitu aquadest bersifat mudah ditumbuh oleh jamur sehingga kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri belum maksimal. Selain itu, juga dapat disebabkan karena teknik inokulasi bakteri pada cawan petri kurang merata, sehingga ketika diberi kertas cakram yang mengandung ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat yang lebih besar (Kulla, 2022). Sedangkan pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% diameter zona

hambat yang terbentuk semakin besar namun perbandingan tiap konsentrasi tidak terlalu signifikan.

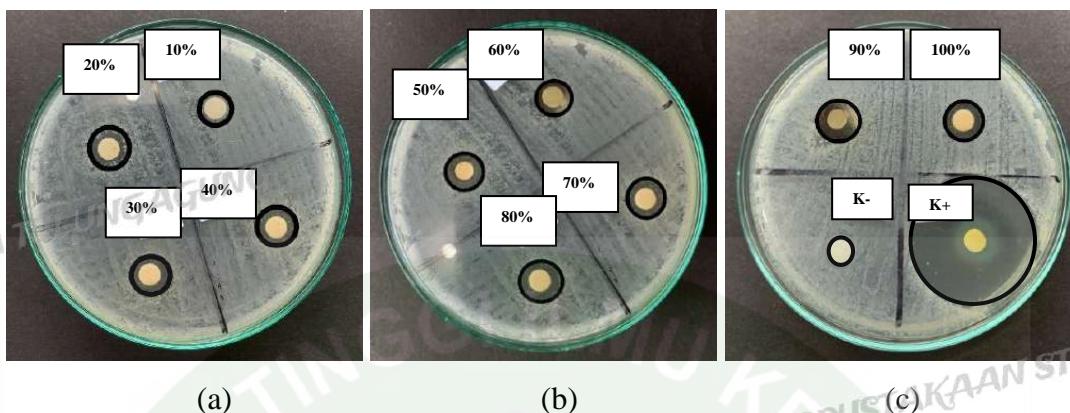
Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Konsentrasi	Rata-Rata Zona	Kategori Respon
	Hambat (mm)	Hambat
10%	1,83 mm	Lemah
20%	2,5 mm	Lemah
30%	4,17 mm	Lemah
40%	3,17 mm	Lemah
50%	4,67 mm	Lemah
60%	4,17 mm	Lemah
70%	4,67 mm	Lemah
80%	5,33 mm	Lemah
90%	5,67 mm	Lemah
100%	6 mm	Sedang
K+ (Kloramfenikol)	9,17 mm	Sedang
K- (Aquades)	0,00 mm	Tidak menghambat

Pada Tabel 4.3 merupakan hasil diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% serta kontrol positif dan negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan diameter zona hambat yang terbentuk berbeda-beda pada tiap konsentrasi. Diameter zona hambat yang terbentuk paling besar yaitu pada konsentrasi 100% dengan diameter 6 mm. Jika dibandingkan dengan kontrol positif yang digunakan, diameter zona hambat yang terbentuk adalah sebesar 9,17 mm dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki spektrum yang luas



serta bersifat bakteriostatik dengan menghambat sintesa protein bakteri Gram positif dan negatif (Kulla, 2022).



Gambar 4.6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Keterangan: (a) Konsentrasi 10%-40%

(b) Konsentrasi 50%-80%

(c) Konsentrasi 90%, 100%, Kontrol Positif, Kontrol Negatif

Berdasarkan Tabel 4.3 terdapat data yang tidak sesuai dengan teori bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar (Kulla, 2022). Pada konsentrasi 40%, diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 3,17 mm. Jika dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah yaitu 30%, zona hambat yang terbentuk sebesar 4,17 mm. Pada konsentrasi 60% diameter zona hambat yang terbentuk juga lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi 50%. Hal tersebut dapat disebabkan karena pelarut yang digunakan, yaitu aquadest bersifat mudah ditumbuhinya oleh jamur sehingga kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri belum maksimal. Selain itu, juga dapat disebabkan karena teknik inokulasi bakteri pada cawan petri kurang merata, sehingga ketika diberi kertas cakram yang mengandung ekstrak mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat yang lebih besar (Kulla, 2022).

Hasil kontrol positif kloramfenikol pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan kategori respon hambat sedang, karena bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 merupakan bakteri gram negatif yang memiliki lapisan-lapisan dinding sel yang lebih kompleks sehingga kloramfenikol lebih sulit berdifusi ke dalam membran sel bakteri gram negatif. Selain itu, bakteri gram negatif memiliki 3 lapisan yaitu lipopolisakarida, protein dan fosfolipid. Pada membran terluar

terdapat porin yang bersifat hidrofilik, sedangkan kloramfenikol bersifat hidrofobik. Hal ini menyebabkan kloramfenikol sukar masuk ke dalam sel bakteri (Suryati *et al.*, 2018). Metode yang digunakan yaitu metode hidroekstraksi merupakan proses isolasi menggunakan air sebagai katalis dan temperatur sebagai tekanan. Pada teknik ekstraksi air panas menggunakan temperatur 50°C mampu menghasilkan hambatan pada pertumbuhan bakteri (Rahayu *et al.*, 2016). Selain itu, metode hidroekstraksi mampu menarik senyawa yang bersifat polar, dimana senyawa yang bersifat polar memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Kemampuan kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih sebagai antibakteri berasal dari kandungan senyawa yang terdapat di dalamnya yaitu senyawa flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri karena dapat mengganggu fungsi dinding sel bakteri melalui pembentukan kompleks dengan protein ekstraseluler serta menghambat motilitas bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari lipid dan asam amino yang akan bereaksi dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid sehingga dapat menimbulkan pembesaran senyawa ke dalam inti sel bakteri dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri (Sadiah *et al.*, 2022).

Saponin merupakan senyawa yang mengandung molekul yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga mampu menurunkan tegangan pada permukaan sel dan permeabilitas membran menjadi rusak. Gangguan yang terjadi pada permukaan dinding sel dan permeabilitas membran sel akan menyebabkan kandungan antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel sehingga sel mengalami kematian (Sari *et al.*, 2017). Adanya kandungan metabolit sekunder memiliki peran penting terhadap mekanisme bakteri. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah dengan cara bereaksi dengan porin yang terdapat pada membran luar dinding sel bakteri kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin akan mengakibatkan sel bakteri kekurangan nutrisi dan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau mati (Misna & Diana, 2016), sedangkan mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan cara menghambat enzim ekstraseluler bakteri serta mengambil alih substrat yang dibutuhkan dalam pertumbuhan bakteri (Widyaningtias *et al.*, 2014).



Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan kategori kuat pada konsentrasi 100% sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan kategori sedang pada konsentrasi 100%. Hasil diameter zona hambat yang terbentuk pada kedua bakteri masih berada di bawah kontrol positif. Kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, hal ini dikarenakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri Gram positif yang bersifat lebih sensitif. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki dinding dari peptidoglikan yang bersifat polar sehingga senyawa flavonoid, tanin, saponin lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan karena sama-sama bersifat polar (Karlina *et al.*, 2013).

4.5 Analisis Data

Berdasarkan analisis data menggunakan SPSS, hasil dari masing-masing sampel menunjukkan data yang berbeda sehingga dilanjutkan uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah data yang dilakukan memiliki distribusi normal atau tidak (Febrianasari, 2018). Hasil uji normalitas dapat dilihat pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

	N	Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
	36	36	
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.50	9.9444
	Std.	3.501	4.12445
	Deviation		
Most Extreme Differences	Absolute	.096	.116
	Positive	.096	.082
	Negative	-.096	-.116
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	.699
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.713 ←

Hasil dari uji normalitas pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa nilai p-value signifikansi sebesar 0,713 (p>0,05) sehingga

dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal atau H_0 diterima, sedangkan hasil dari uji normalitas pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

	N	Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	36	36
	Std.	6.50	4.2472
	Deviation	3.501	2.23178
Most Extreme Differences	Absolute	.096	.094
	Positive	.096	.094
	Negative	-.096	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	.563
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.909

Hasil dari uji normalitas pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa nilai p-value signifikansi sebesar 0,909 ($p>0,05$) yang menunjukkan data terdistribusi normal atau H_0 diterima. Kemudian dilakukan analisis varians data menggunakan *Levene's test* pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan nilai p-value signifikansi sebesar 0,146 ($p>0,05$) dan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 nilai p-value signifikansi sebesar 0,418 ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa varians data pada penelitian ini homogen.

Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Test of Homogeneity of Variances

	Diameter Zona Hambat		
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.655	11	24	.146



Tabel 4.7 Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Test of Homogeneity of Variances				
Diameter Zona Hambat				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
1.077	11	24	.418	

Uji hipotesa kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *One way Anova* karena uji homogenitas dan uji normalitas telah terpenuhi. Hasil uji *One way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($p \leq 0,05$) pada rata-rata diameter zona hambat dengan nilai signifikansi $p=0,000$. Dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabel 4.8 Hasil Uji *One Way Anova* Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	503.222	11	45.747	39.925	.000
Within Groups	27.500	24	1.146		
Total	530.722	35			

Tabel 4.9 Hasil Uji *One Way Anova* Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	171.270	11	15.570	122.117	.000
Within Groups	3.060	24	.128		
Total	174.330	35			



Pengujian dilanjutkan dengan uji *Tukey*. Hasil uji *Tukey* pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi tidak berbeda signifikan dan yang mendekati nilai dari kontrol positif adalah konsentrasi 100% dengan nilai sig 11,5 sehingga konsentrasi optimum dari aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah konsentrasi 100%.

Tabel 4.10 Hasil Uji *Tukey* Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Diameter Zona Hambat												
Tukey HSD ^a		N	Subset for alpha = 0.05									
Variasi	Konsentrasi		1	2	3	4						
Kontrol Negatif	3	.0000										
Konsentrasi 20%	3		1.8333									
Konsentrasi 10%	3			3.0000								
Konsentrasi 30%	3				6.8300							
Konsentrasi 40%	3					7.8333						
Konsentrasi 50%	3						8.8333					
Konsentrasi 60%	3							9.5000				
Konsentrasi 70%	3								9.5000			
Konsentrasi 80%	3									10.6667		
Konsentrasi 90%	3										10.6667	
Konsentrasi 100%	3											11.5000
Kontrol Positif	3											11.6667
Sig.			1.000	.106	.217	.072	.057	.397				

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.



Tabel 4.11 Hasil Uji Tukey Kombinasi Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Diameter Zona Hambat										
Tukey HSD ^a		N	Subset for alpha = 0.05							
Variasi	Konsentrasi		1	2	3	4	5	6	7	8
Kontrol Negatif	3	1.0000								
Konsentrasi 10%	3		0.8333							
Konsentrasi 20%	3			2.5000	2.5000					
Konsentrasi 40%	3				3.1777					
Konsentrasi 30%	3					4.1777	4.1777			
Konsentrasi 50%	3						4.3777			
Konsentrasi 60%	3							4.6777	4.6777	
Konsentrasi 70%	3								4.6777	4.6777
Konsentrasi 80%	3									5.3333
Konsentrasi 90%	3									5.6667
Konsentrasi 100%										6.0000
Kontrol Positif	3									9.1777
Sig.		1.000	.510	.510	.218	.510	.073	.073	.510	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Hasil uji Tukey pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 juga menunjukkan bahwa variasi konsentrasi tidak berbeda signifikan dan yang mendekati nilai dari kontrol positif adalah konsentrasi 100% dengan nilai sig 6 sehingga konsentrasi optimum dari aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah konsentrasi 100%.

Berdasarkan hasil uji Tukey pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih tidak berbeda signifikan. Hal tersebut dapat disebabkan karena pelarut yang digunakan saat ekstraksi, pengaruh tempat tumbuh tanaman yaitu iklim serta penyimpanan konsentrasi ekstrak yang belum maksimal (Yuda *et al.*, 2017).



Hasil konsentrasi optimum pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah pada konsentrasi 100% dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Hal tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi ekstrak memengaruhi kecepatan difusi zat berkhasiat. Apabila konsentrasi ekstrak semakin besar, maka proses difusi juga semakin cepat, sehingga semakin besar daya antibakteri dan semakin luas diameter zona hambat yang dihasilkan (Andries *et al.*, 2014).

Jika dibandingkan dengan metode lain, metode hidroekstraksi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih belum efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 karena pada metode maserasi masing-masing ekstrak tunggal daun sirih dan belimbing wuluh mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam kategori kuat dengan konsentrasi yang lebih rendah (Bagus *et al.*, 2022). Namun uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih belum pernah dilakukan selain menggunakan metode hidroekstraksi, sehingga perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menggunakan metode maserasi ataupun metode yang lainnya.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada uji aktivitas antibakteri, semakin tinggi konsentrasi maka zona hambat yang dihasilkan juga akan semakin besar.
2. Kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki daya hambat optimum pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 11,05 mm yang bersifat kuat dan pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 9,17 mm yang bersifat sedang.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik saran sebagai berikut:

1. Perlu adanya penelitian tentang aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) secara in vivo.
2. Dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan menggunakan metode maserasi.
3. Dilakukan uji kandungan senyawa menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidha, O. B. (2019). Hubungan Sanitasi Lingkungan Kolam Renang Dengan Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* Di Kolam Renang Kabupaten Madiun Dan Kabupaten. *Skripsi Program Kesehatan Masyarakat STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun*, 5–10.
- Abubakar, P. M., Fatimawali, F., & Yamlean, P. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. Schum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Sputum Pada Penderita Pneumonia Resisten Antibiotik Seftriakson. *Pharmacon*, 8(1), 11-21.
- Aida, A. N., Suswati, E., & Misnawi. (2016). Uji In Vitro Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4(1), 127–131.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli in Europe: An overview*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(12), 6235–6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- Anggraini, V., & Masfufatun, M. (2017). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Dan Ekstrak Biji Alpukat (*Persea Americana*) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Jurnal Kimia Riset*, 2, pp.86–92
- Arifin, B., & Ibrahim, S. (2018). Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1), 21–29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Ariyani, H., Nazemi, M., Hamidah, H., & Kurniati, M. (2018). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Cyrtus hystrix DC*) Terhadap Beberapa Bakteri. *JCPS (Journal of Current Pharmaceutical Sciences)*, 2(1), 136-141.
- Arlofa, N. (2015). Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian sebagai Bahan Aktif Pembuatan Sabun. *Jurnal Chemtech*, 1(01), 343–354. <https://ejurnal.lppmunsera.org/index.php/Chemtech/article/view/5>
- Andries, J. R., Gunawan, P. N., & Supit, A. (2014). Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Secara In Vitro. *e-GiGi*, 2(2).
- Astuti, M. D., Umaningrum, D., & Mustikasari, K. (2014). Toksisitas Ekstrak N-Heksana Dan Metanol Daun Kelopak Tambahan Tumbuhan Permot (*Passiflora foetida L.*). *Sains Dan Terapan Kimia*, 8(2), 80–86.
- Astuty, E., & Wibriono, O. (2022). *Pelatihan Sterilisasi Alat Dan Bahan Medis Pada Anggota Tim Bantuan Medis Vertebrae Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura*. 1(5), 284–290.
- Ayu A. Ragil Mukaromah, Anthofani Farhan, N. I. M. (2020). Daya Hambat

*Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* (Studi di Ruang Laboratorium Mikrobiologi STIKES ICME Jombang). 778–783.*

Bagus, I., Suyasa, O., Bekti, H. S., Rinawati, L. P., & Laksmi, L. P. (2022). *Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*.* 1(5).

Balafif, R. A. R., Andayani, Y., & Gunawan, R. (2013). Analisis Senyawa Triterpenoid Dari Hasil Fraksinasi Ekstrak Air Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris Linn*). *Chemistry Progress*, 6(2), 56–61.

Bustanussalam, B., Apriasi, D., Suhardi, E., & Jaenudin, D. (2015). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle Linn*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 58–64. <https://doi.org/10.33751/jf.v5i2.409>

Charisma, S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. skripsi. (STIKes Karya Putra Bangsa).

Christabel, P. F., Hernando, M. V., Sutanto, C. A., & Parisihni, K. (2019). *Exploration of Chlorella sp. as antibacterial to Aggregatibacter actinomycetemcomitans biofilm.* IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 217(1), 0–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/217/1/012040>

Departemen Republik Indonesia. (1995). *Formularium Indonesia*, edisi IV

Depkes RI. (1986). *Sediaan Galenika*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

Dwyana, Z., & Johannes, E. (2012). Uji Efektivitas Ekstrak Alga Merah *Euchema cottonii* sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 7(1), 1–7. <https://core.ac.uk/reader/25489644>

Ekawati, M. A., Suirta, I. W., & Santi, S. R. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Sembukan (*Paederia foetida L*) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia*.

Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.

Ernawati, T., & Budiana, A. (2016). Bioaktivitas Turunan Metil Sinamat Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

subtilis, *Pseudomonas aureogenosa* dan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Kimia Valensi*, 1(1), 60-64.

Farhamzah, & Aeni Indrayati. (2019). Formulasi, Uji Stabilitas Fisik Dan Kompatibilitas Produk Kosmetik Anti-Aging Dalam Sediaan Serum Pudding. *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 1–12.

Fathoni, D. S., Fadhillah, I., & Kaavessina, M. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Sebagai Bahan Aktif Antibakteri Dalam Gel Hand Sanitizer Non-Alkohol. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*, 3(1), 9. <https://doi.org/10.20961/equilibrium.v3i1.43215>

Fathurrahman, N. R., & Musfiroh, I. (2018). Artikel Tinjauan: Teknik Analisis Instrumentasi Senyawa Tanin. *Farmaka*, 4(2), 449–456.

Febrianasari, F. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (*Chromolaena odorata*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi Program Studi Pendidikan Biologi*. <https://doi.org/10.1201/b13514>

Ferdyani, S., Yuniarto, P. F., Savitri Prodi Farmasi, L. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kesehatan Mahasiswa UNIK*, 2(1), 30–42.

Fione, V. R., & Karamoy, Y. (2022). Uji Efektivitas Anti Bakteri Ekstrak Dan Fraksi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L*) Pada Bakteri Isolat Plak Gigi (In Vivo). *E-Prosiding Seminar Nasional*, 01(02), 22–35.

Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108.

Fitriani, A. I. (2021). Uji Total Plate Count (TPC) Pada Beberapa Bahan Pangan Hewani Dengan Pemberian Antimikroba Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) SKRIPSI. *Doctoral Dissertation, UIN Raden Intan Lampung*.

Gunawan, H. D. (2018). *Decreasing Saponin Compounds on Aloe Vera Gelwith Boiling and Steaming*. *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1), 411–436.

Gurning, K., Siahaan, D., & Iksen, I. (2020). *Antibacterial Activity Test Of Extract Ethanol Of Jackfruit Leaves (Artocarpus heterophyllus. Lamk.) Of Bacteria Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Staphylococcus epidermidis and Salmonella typhi*. *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 2(2), 49–54. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v2i2.28>

Hartati, I., Nurfaizin, S., Suwardiyono, S., & Kurniasari, L. (2016). Ekstraksi Gelombang Mikro Terpenoid Daun Surian (*Toona sureni merr*). *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 1(2).

- Hidjrawan Yusi. (2018). Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurusran Teknik Industri*, 4(2), 78–82.
- Ichsani, A., Lubis, C. F., Urbaningrum, L. M., Rahmawati, N. D., & Anggraini, S. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*, 2(6), 751-757.
- Ikalinus, R., Widayastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71-79.
- Inayatullah, S. (2012). Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi Program Studi Pendidikan Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*, 50.
- Jawetz, Melnick, & Aldeberg. (2012). Mikrobiologi Iftdokteran. *Mikrobiologi Kedokteran*, 23(1), 251–257.
- Jayalakshmi, B., Raveesha, K. A., Murali, M., & Amruthesh, K. N. (2015). *Phytochemical, antibacterial and antioxidant studies on leaf extracts of Piper Betle L. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(10), 23–29.
- Karlina, C. Y., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*, 2, 87–93.
- Kolanus, J. P., Hadinoto, S., & Idrus, S. (2019). Karakteristik Kolagen Larut Asam dari Kulit Ikan Tuna (*Thunnus albacores.*) dengan Metode Hidroekstraksi. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 13(1), 99.
- Kulla, D. P. K. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri dari Dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium sativum L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J-HESTECH (Journal Of Health Educational Science And Technology)*, 8(2), 1–15.
- Kumar, K. A., Gousia, S., Anupama, M., & Latha, J. N. L. (2013). *A review on phytochemical constituents and biological assays of Averrhoa bilimbi*. Researchgate.Net, 32(January), 513–524.
- Kumayas, A. R. (2015). Aktifitas Antibakteri dan Karateristik Gugus Fungsi dari Tunikata *Polycarpa aurata*. *Pharmacon*, 4(1).
- Kusumawati, E. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kecombrang (*Etlingera elatior (Jack) R.M. Smith*) Terhadap Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Difusi Sumur. 04(April), 26–34.
- Lenny, A. A. (2016). Daya Hambat Ekstrak Buah Alpukat (Persea americana mill)

Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Skripsi*, 1–62.

Lestari, D. P. (2021). Analisis Hygiene Sanitasi dan Pemeriksaan Kandungan *Escherichia Coli* pada Air Tebu yang Dijual di Pasar Buah Berastagi Tahun 2021. In *Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Kesehatan Lingkungan Prodi Diii Sanitasi Kabanjahe*.

Lutfita, D. R. (2012). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Brokoli (skripsi). Bandung: Universitas Islam Bandung, 1–49. http://elibrary.unisba.ac.id/files/09-1616_Fulltext.pdf

Marfuah, Isnaini, Dewi, Eko Nurcahya, Rianingsih, L. (2017). Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Study. *Jpbhp*, 7(1), 12–13.

Maryam, S., Juniasti, S., & Kosman, R. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Asal Kota Watampone. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 7(1), 60–69. <https://doi.org/10.33096/jifa.v7i1.21>

Misna, & Diana, K. (2016). Aktivitas Bakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. 2(2).

Nadira, G. A. (2018). Uji Daya Hambat Garam Bermerek yang Mengandung Yodium Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Karya Tulis Ilmiah Politeknik Kemenkes RI Medan*.

Ninulia, P.P. (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Randu (*Ceiba Pentandra L. Gaertn*) Terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (Mrsa).

Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V. S. (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA*, 2(2), 128.

Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia L.*). *Jurnal Eksakta*, 18(1), 19–29. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3>

Noventi, W. R.-4272-2-P. pdfa., & Carolina, N. (2016). Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) sebagai Alternatif Terapi *Acne vulgaris*. *Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, Vol. 5(1), Hal. 140.

Noviyanti, P, S., & Tarigan, D. (2014). Uji Fitokimia, Toksisitas Dan Aktivitas Antibakteri Terhadap Ekstrak Etanol Daun Rambusa (*Passiflora foetida L.*)

Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 12(1), 31–36.

Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>

Nuria, Maulita Cut, Faizatun, Arvin, S. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. 5, 26–27. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1989.tb01777.x>

Otto, M. (2014). *Staphylococcus aureus* toxins. *Current Opinion in Microbiology*, 17(1), 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004>

Pratama, M., Razak, R., & Rosalina, V. S. (2019). Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), 368–373.

Pratama, S. A., & Permatasari, R. I. (2021). Pengaruh Penerapan Standar Operasional Prosedur Dan Kompetensi Terhadap Produktivitas Kerja Karyawan Divisi Ekspor Pt. Dua Kuda Indonesia. *Jurnal Ilmiah M-Progress*, 11(1), 38–47.

Purnamaningsih, N. A., Kalor, H., & Atun, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xabthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Penelitian Saintek*, 22(2).

Putri, A. K., Satwika, Q. E., Sulistyana, Y., & Arindias, Z. (2019). Studi Morfologi *Piper betle L.* dan Pemanfaatannya dalam Kehidupan Sehari – Hari. *Universitas Sebelas Maret*, 1–7.

Rafsanjani, M. K., & Putri, W. D. R. (2015). Karakterisasi ekstrak kulit jeruk bali menggunakan metode ultrasonic bath (kajian perbedaan pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(4), 1473–1480.

Rahayu, Susi Afrianti, Gumilar, M. H. (2017). Uji Cemaran Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 4(2), 50. <https://doi.org/10.15416/ijpst.v4i2.13112>

Rahayu, N. W. S., Prasetyo, E. N., & Isdiantoni. (2016). Hindroekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) sebagai Pengendali Penyakit Ice-ice pada Budidaya Kappaphycus alvarezii. *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 1–8.

Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. (2022). Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper betle L*) Sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2), 128. <https://doi.org/10.22146/jsv.58745>

Sari, R., Muhani, M., & Fajriaty, I. (2017). *Antibacterial Activity of Ethanolic Leaves Extract of Agarwood (Aquilaria microcarpa Baill.) Against Staphylococcus aureus and Proteus mirabilis*. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3), 143–154. <https://doi.org/10.7454/prs.v4i3.3756>

Saskiawan, I., & Hasanah, N. (2015). Aktivitas Antimikroba Dan Antioksidan Senyawa Polisakarida Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(5), 1105-1109.

Septiana, Aisyah Tri, Asnani, A. (2012). Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum duplicatum*) Menggunakan Berbagai Pelarut Dan Metode Ekstraksi. 6(1). https://doi.org/10.1007/978-3-642-85451-4_42

Setyawan, D. A. (2020). Petunjuk Praktikum Uji Normalitas & Uji Homogenitas Data dengan SPSS. In *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*.

Sholehah, Meivi Mar'atus, Ma'ruf, Widodo Farid, R. (2016). Karakteristik Dan Aktivitas Antibakteri Edible Film Dari *Refined Carageenan* Dengan Penambahan Minyak Atsiri Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Characteristics. *J. Peng. & Biotek.*, 5(3), 390–392.

Soedarto. (2015). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto.

Suci Ramadhani, S., Agus Setiawan, A., & Irwan Sukri Banuwa, I. (2019). Pemilihan Jenis Pohon Menjerap Debu Di Median Jalan Kotabandar Lampung. *Jurnal Belantara*, 2(2), 134-141.

Sugiyono. (2015). *Metode Penelitian Manajemen*. Bandung: Alfabeta.

Sugiyono. (2016). *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*, Alfabeta, Bandung.

Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*, 5(1).

Surjowardjo, Puguh, Susilorini, Tri Eko, Sirait, G. R. B. (2015). Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp*. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *Ternak Tropika*, 16(2), 40–48.

Suryati, N., Bahar, E., & Ilmiawati, I. (2018). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe Vera Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3), 518-522.



Tilarso, Dara Pranidya, Muadifah, Afidatul , Handaru, Windu, Pratiwi, Putri Indah, Khusna, M. L. (2022). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Dan Belimbing Wuluh Dengan Metode Hidroekstraksi. *Chempublish Journal*, 7(2).

Toelle, N. N., & Lenda, V. (2014). Identifikasi dan Karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari Infeksi Ovarium pada Ayam Petelur Komersial. *Jurnal Ilmu Ternak*, 1(7), 32–37.

Tortora, G., Frunke, B., & Case, C. (2013). *Microbiology*. America: Pearson.

Wardaniati, I., & Gusmawarni, V. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Propolis Terhadap *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Farmasi Higea*, 13(2), 115–123

Wardhani, L. K., & Sulistyani, N. (2012). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens (L.) Moq.*) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis TipiS. *Pharmaciana*, 2(1). <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v2i1.636>

Wenda, Y., Wowor, P. M., & Leman, M. A. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni M.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *E-GIGI*, 5(1). <https://doi.org/10.35790/eg.5.1.2017.15416>

Widyaningtias, N.M.S.R, Yustiantara, P.S, Paramita, N. L. P. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Esktrak Terpurifikasi Daun Sirih (*Piper betle L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1), 50–53. <http://journal.um-surabaya.ac.id/index.php/JKM/article/view/2203>

Wihansah, R. R. S., et al. (2018). Pengaruh Pemberian Glukosa yang Berbeda terhadap Adaptasi *Escherichia coli* pada Cekaman Lingkungan Asam. 13(1), 36–42.

Yuda, P. E. S. K., Cahyaningsih, E., & Winariyanthi, N. P. Y. (2017). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2).

Yusriana, C. S., Budi, C. S., & Dewi, T. (2014). Uji Daya Hambat Infusa Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Permata Indonesia*, 5(2), 1–7.

Yusi, H. (2018). Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurusan Teknik Industri*, 4(2), 78–82.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
 Jl. Lahir 87 Kota Batu
 Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
 Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
 Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/481/102.20-A/2022
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Belimbing Wuluh**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : Apt. DARA PRANIDYA TILARSO, M.Farm
 NIM/NIK : 18.01.89.15
 Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman belimbing wuluh

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Oxalidaceae
Marga	: Averrhoa
Jenis	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.
Nama Daerah	: Limeng, selimeng, thlimeng (Aceh); balimbieng (Minangkabau); belimbing asam (Melayu); Balimbing (Lampung); calinching, balingbing (Sunda); belimbing wuluh (Jawa); bhalingbhing bulu (Madura); blingbing buloh (Bali).
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b:Oxalidaceae-a:Averrhoa-1b: <i>A.bilimbi</i> .

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 5-10 m. Batang: Tegak, bercabang-cabang, permukaan kasar, banyak tonjolan, hijau kotor. Daun: Majemuk, menyirip, anak daun 25-45 helai, bulat telur, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang 7-10 cm, lebar 1-3 cm, bertangkai pendek, pertulangan menyirip, hijau muda, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, pada tonjolan batang dan cabang, menggantung, panjang 5-20 cm, kelopak ± 6 mm, merah, daun mahkota bergandengan, bentuk lanset, ungu. Buah: Buni, bulat, panjang 4-6 cm, hijau kekuningan. Biji: Lanset atau segi tiga, masih muda hijau setelah tua kuning kehijauan. Akar: Tunggang, coklat kehitaman.
3. Bagian yang digunakan : Buah.
4. Penggunaan : Penelitian.
5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 07 Juli 2022



Watermarkly

Lampiran 2. Hasil Determinasi Daun Sirih (*Piper betle*)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
 Jl. Lahir 87 Kota Batu
 Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
 Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
 Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/ 480/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Sirih Hijau

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : Apt. DARA PRANIDYA TILARSO, M.Farm
NIM/NIK : 18.01.89.15
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman sirih hijau

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Piperales
Suku	: Piperaceae
Marga	: Piper
Jenis	: <i>Piper betle</i> L.
Nama Umum	: Sirih hijau.
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64a:Piperaceae-1a: <i>P. betle</i> .

2. Morfologi : Habitus: Perdu, merambat. Batang: Berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur, hijau. Daun: Tunggal, bulat panjang, pangkal bentuk jantung, ujung meruncing, tepi rata, panjang 5-8 cm, lebar 2-5 cm, bertangkai, permukaan halus, pertulangan menyirip, hijau, hijau tua. Bunga: Majemuk, bentuk bulir, daun pelindung ±1 mm, bentuk bulat panjang, bulir jantan panjang 1,5-3 cm, benang sari dua, pendek, bulir betina panjang 1,5-6 cm, kelapa putik tiga sampai lima, putih, hijau kekuningan. Buah: Buni, bulat, hijau keabu-abuan. Akar: Tunggang, bulat, coklat kekuningan.

3. Bagian yang digunakan : Daun.
 4. Penggunaan : Penelitian.
 5. Daftar Pustaka

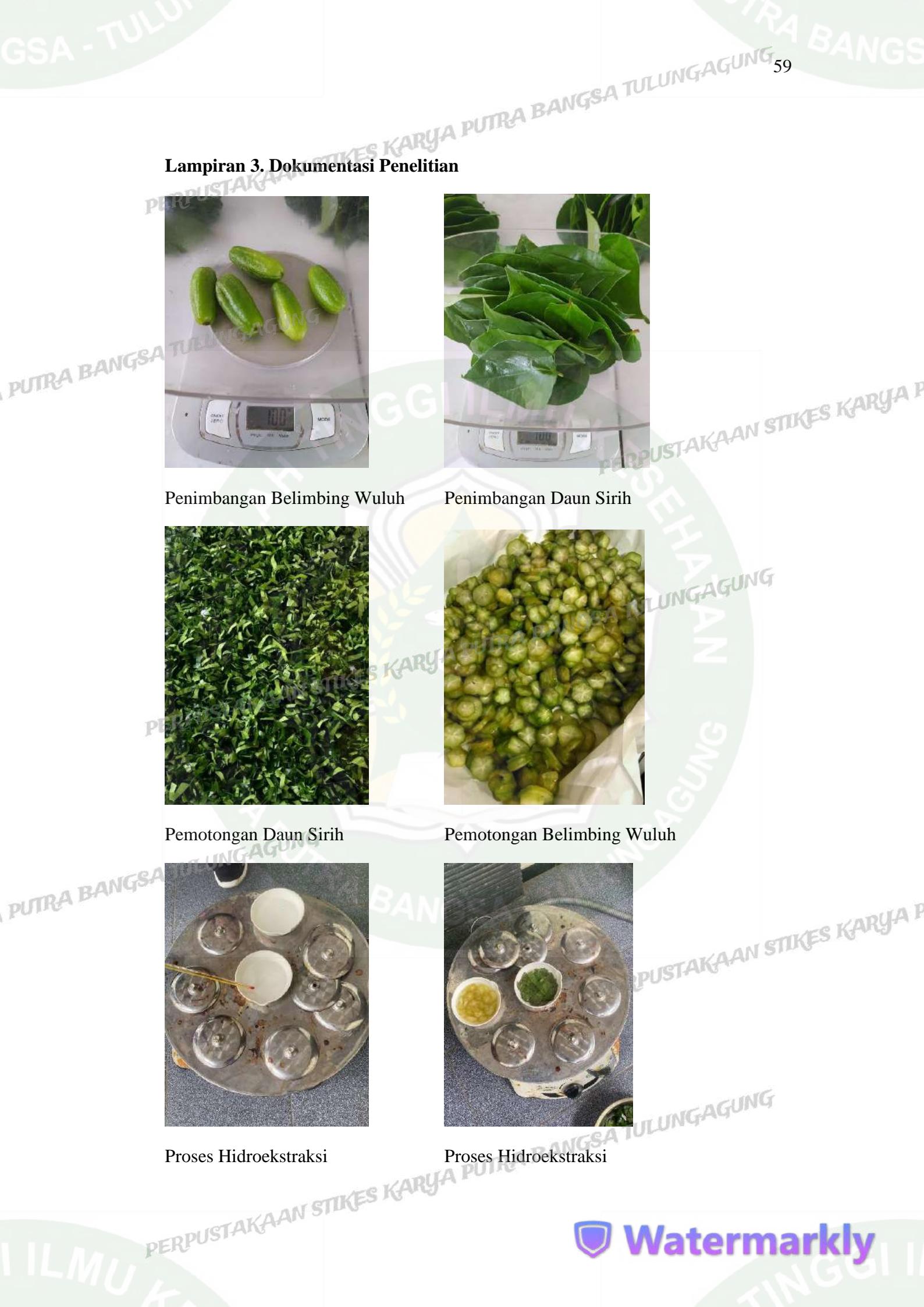
- Anonim. 1980. *Materia Medica Indonesia "Jilid IV"*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA, untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 07 Juli 2022



Watermarkly



Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Penimbangan Belimbing Wuluh



Penimbangan Daun Sirih



Pemotongan Daun Sirih



Pemotongan Belimbing Wuluh



Proses Hidroekstraksi



Proses Hidroekstraksi



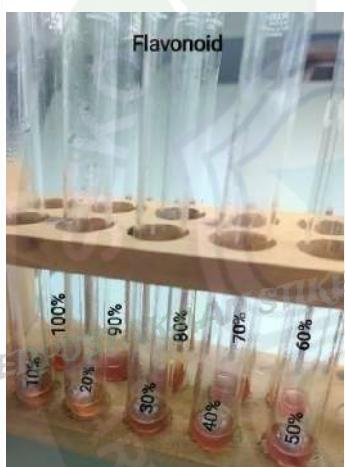
Watermarkly



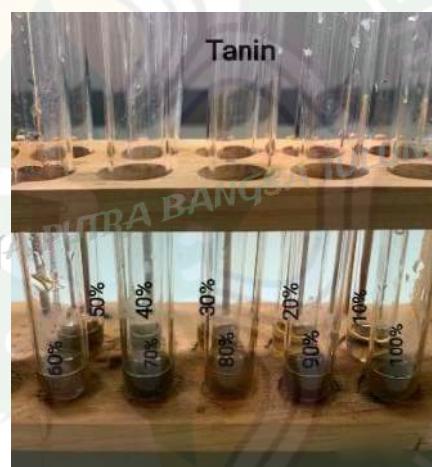
Proses Penyaringan
Hasil Skrining Ekstrak



Pembuatan Variasi Konsentrasi



Uji Flavonoid



Uji Tanin



Uji Saponin Konsentrasi 10%-50%



Uji Saponin Konsentrasi 60%-100%



Watermarkly

Lampiran 4. Surat Pernyataan Penanganan Mikroorganisme

SURAT PERNYATAAN PENANGANAN MIKROORGANISME

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DI BAWAH INI :

NAMA : Mursyidah Lathifatul Khusna

ALAMAT : Ds. Plosokandang, Kec. Kedungwaru, Kab. Tulungagung, Jawa Timur

INSTITUSI : STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA SAYA AKAN MEMPERLAKUKAN MIKROORGANISME BAKTERI/ JAMUR/ SUSPENSI-TELUR-CACING (SEBUTKAN JENISNYA)

1. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

2. *Escherichia coli* ATCC 25922

3.

4.

SESUAI DENGAN KETENTUAN UNIVERSAL BIOSAFETY DAN BIOSECURITY, SAYA MENGGUNAKAN MIKROORGANISME BAKTERI/ JAMUR/ SUSPENSI-TELUR CACING DIATAS HANYA UNTUK KEPERLUAN

1. Penelitian

2.

SAYA TIDAK AKAN MENYALAH GUNAKAN BAKTERI/ JAMUR/ SUSPENSI-TELUR CACING TERSEBUT DILUAR KEPERLUAN DIATAS DAN SAYA BERTANGGUNG JAWAB PENUH BILA TERJADI HAL-HAL YANG TIDAK DIINGINKAN OLEH KARENA MIKROORGANISME TERSEBUT.

YANG MEMBUAT PERNYATAAN



(Mursyidah Lathifatul Khusna)

SAKSI**
Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra
Badung



(pt. Dara Prabdy Tilarso., M.Farm.)

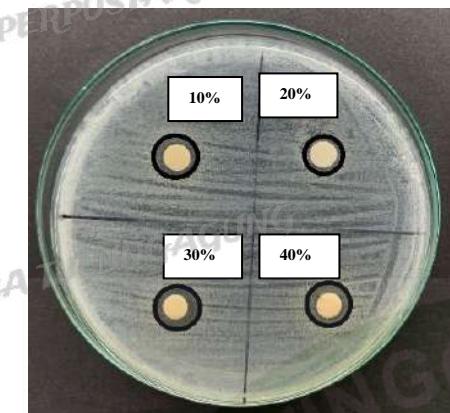
Keterangan :

- Saksi adalah dosen pembimbing atau atasan langsung.
- Tanda tangan harus bersetempel resmi

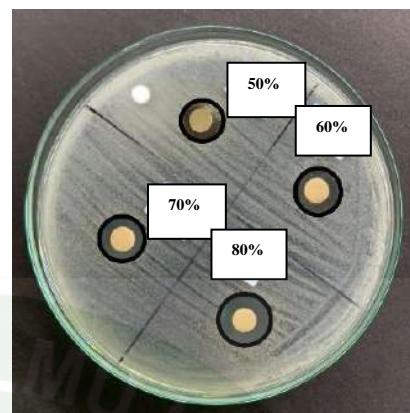


Watermarkly

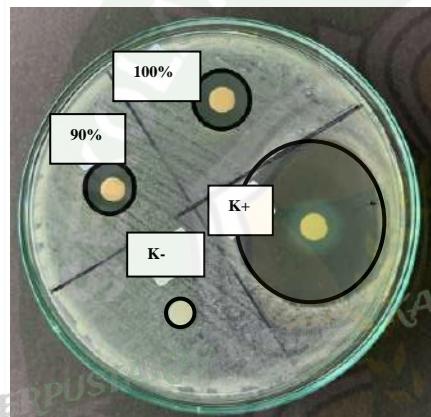
Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*



Konsentrasi 10%-40%

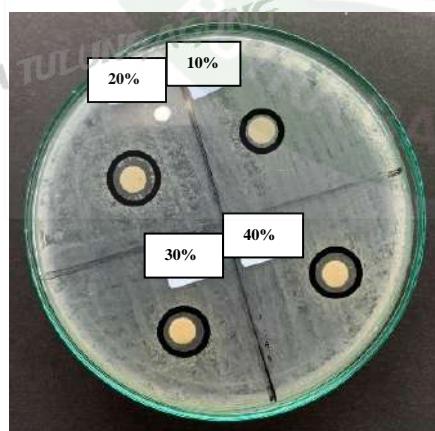


Konsentrasi 50%-80%

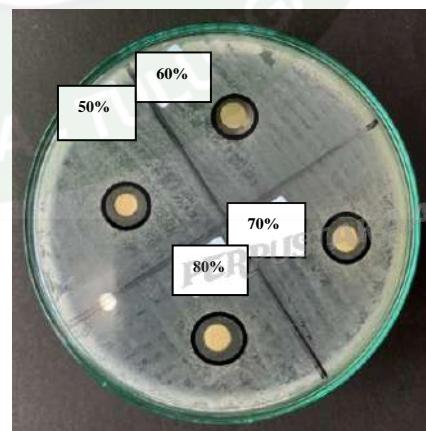


Konsentrasi 90%, 100%, K⁺ dan K⁻

Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*



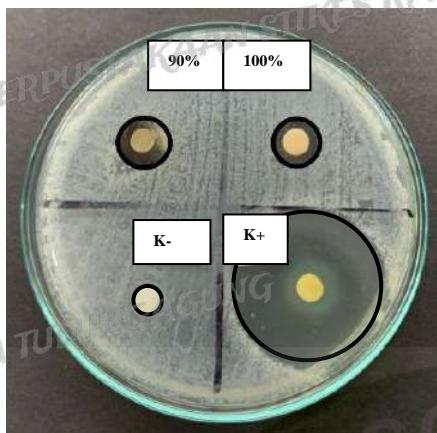
Konsentrasi 10%-40%



Konsentrasi 50%-80%



Watermarkly



Konsentrasi 90%, 100%, K+ dan K-

Lampiran 5. Perhitungan Bahan

1. Perhitungan Konsentrasi

Stok I = 15 : 15 mg/mL (100%)

a. Konsentrasi 100%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$100\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$1000 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 10 \text{ mL larutan}$$

b. Konsentrasi 90%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$90\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$900 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 9 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

c. Konsentrasi 80%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$80\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$800 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 8 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 70%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$70\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$700 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 7 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 60%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$60\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$600 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 6 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

f. Konsentrasi 50%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$50\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$500 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 5 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

g. Konsentrasi 40%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$40\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$400 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 4 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

h. Konsentrasi 30%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$30\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$300 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 3 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

i. Konsentrasi 20%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$



$$20\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$200 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 2 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

j. Konsentrasi 10%

$$C_2 = \frac{V_1 \times C_1}{V_2}$$

$$10\% = \frac{x \times 100\%}{10 \text{ mL}}$$

$$100 \text{ mL} = 100 \times x \text{ mL}$$

$$= 1 \text{ mL larutan} \cap 10 \text{ mL}$$

2. Perhitungan Media

a. Pembuatan Media Nutrient Broth (NB)

$$\text{Bobot NB} = \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$= \frac{8}{1000} \times 40 \text{ mL} = 0,32 \text{ gr}$$

b. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

$$\text{Bobot NA} = \frac{\text{BM}}{1000} \times \text{Volume}$$

$$= \frac{20}{1000} \times 120 \text{ mL} = 2,4 \text{ gr}$$

3. Perhitungan Kloramfenikol Sebagai Kontrol Positif

0,01 mg/10 mL

$$1\% = \frac{1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

$$\frac{1000 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} = \frac{\mu}{\text{rata-rata berat kloramfenikol}}$$

$$\frac{1000 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} = \frac{\mu}{584 \text{ mg}}$$

$$\mu = \frac{1000 \text{ mg} \times 584 \text{ mg}}{500 \text{ mg}}$$

$$= 1,168 \text{ mg}$$

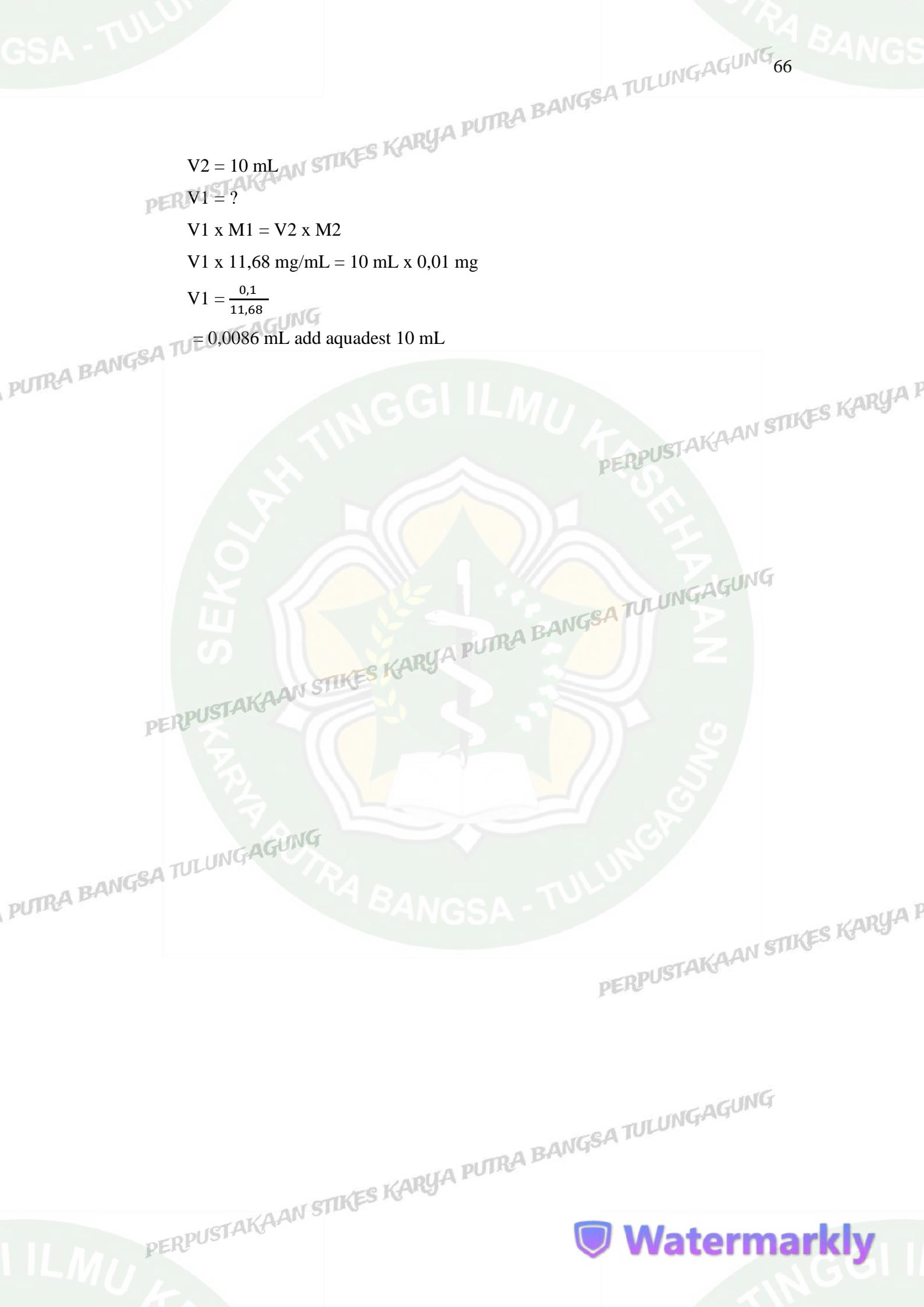
$$\mu = \frac{1,168 \text{ mg}}{100 \text{ mL}}$$

$$= 11,68 \text{ mg/mL}$$

Diketahui:

$$M_1 = 11,68 \text{ mg/mL}$$

$$M_2 = 0,01 \text{ mg}$$



$$V_2 = 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = ?$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 11,68 \text{ mg/mL} = 10 \text{ mL} \times 0,01 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{0,1}{11,68}$$

$$= 0,0086 \text{ mL add aquadest } 10 \text{ mL}$$

Lampiran 6. Analisis Hasil

1. Uji Normalitas *Staphylococcus aureus*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
N		36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.50	9.9444
	Std.	3.501	4.12445
Most Extreme Differences	Absolute Deviation	.096	.116
	Positive	.096	.082
	Negative	-.096	-.116
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	.699
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.713

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2. Uji Normalitas *Escherichia coli*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
N		36	36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	6.50	4.2472
	Std.	3.501	2.23178
Most Extreme Differences	Absolute Deviation	.096	.094
	Positive	.096	.094
	Negative	-.096	-.094
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	.563
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.909

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

3. Uji Homogenitas *Staphylococcus aureus*

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.655	11	24	.146

4. Uji Homogenitas *Escherichia coli*

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.077	11	24	.418

5. ANOVA *Staphylococcus aureus*

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	503.222	11	45.747	39.925	.000
Within Groups	27.500	24	1.146		
Total	530.722	35			

6. ANOVA *Escherichia coli*

ANOVA

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	171.270	11	15.570	122.117	.000
Within Groups	3.060	24	.128		
Total	174.330	35			



Watermarkly

7. Uji LSD *Staphylococcus aureus*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

	(I) Variasi Konsentrasi	(J) Variasi Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Konsentrasi 10%	Konsentrasi 20%	.166667	.87401	.850	-	1.9705
		Konsentrasi 30%	-2.50000*	.87401	.009	-	.6961
		Konsentrasi 40%	-3.16667*	.87401	.001	4.3039	-1.3628
		Konsentrasi 50%	-4.50000*	.87401	.000	4.9705	-2.6961
		Konsentrasi 60%	-4.50000*	.87401	.000	6.3039	-2.6961
		Konsentrasi 70%	-4.66667*	.87401	.000	-	-2.8628
		Konsentrasi 80%	-5.66667*	.87401	.000	6.4705	-3.8628
		Konsentrasi 90%	-6.66667*	.87401	.000	7.4705	-4.8628
		Konsentrasi 100%	-7.50000*	.87401	.000	8.4705	-5.6961
		Kontrol Positif	-8.83333*	.87401	.000	9.3039	-7.0295
Konsentrasi 20%	Kontrol Negatif	Kontrol Negatif	6.50000*	.87401	.000	10.637	8.3039
		Konsentrasi 10%	-.166667	.87401	.850	-	1.6372
		Konsentrasi 30%	-2.66667*	.87401	.005	1.9705	-8.628
		Konsentrasi 40%	-3.33333*	.87401	.001	4.4705	-1.5295
		Konsentrasi 50%	-4.66667*	.87401	.000	5.1372	-2.8628



Watermarkly

Konsentrasi 60%	-4.66667*	.87401	.000	-	6.4705	-2.8628
Konsentrasi 70%	-4.83333*	.87401	.000	-	6.6372	-3.0295
Konsentrasi 80%	-5.83333*	.87401	.000	-	7.6372	-4.0295
Konsentrasi 90%	-6.83333*	.87401	.000	-	8.6372	-5.0295
Konsentrasi 100%	-7.66667*	.87401	.000	-	9.4705	-5.8628
Kontrol Positif	-9.00000*	.87401	.000	10.803 9		-7.1961
Kontrol Negatif	6.33333*	.87401	.000	4.5295		8.1372
Konsentrasi 10%	2.50000*	.87401	.009	.6961		4.3039
Konsentrasi 20%	2.66667*	.87401	.005	.8628		4.4705
Konsentrasi 40%	-.66667	.87401	.453	-	2.4705	1.1372
Konsentrasi 50%	-2.00000*	.87401	.031	-	3.8039	-.1961
Konsentrasi 60%	-2.00000*	.87401	.031	-	3.8039	-.1961
Konsentrasi 30% 70%	-2.16667*	.87401	.021	-	3.9705	-.3628
Konsentrasi 80%	-3.16667*	.87401	.001	-	4.9705	-1.3628
Konsentrasi 90%	-4.16667*	.87401	.000	-	5.9705	-2.3628
Konsentrasi 100%	-5.00000*	.87401	.000	-	6.8039	-3.1961
Kontrol Positif	-6.33333*	.87401	.000	8.1372		-4.5295
Kontrol Negatif	9.00000*	.87401	.000	7.1961		10.8039



Konsentrasi 10%	3.16667*	.87401	.001	1.3628	4.9705
Konsentrasi 20%	3.33333*	.87401	.001	1.5295	5.1372
Konsentrasi 30%	.66667	.87401	.453	-	2.4705
Konsentrasi 50%	-1.33333	.87401	.140	-	.4705
Konsentrasi 60%	-1.33333	.87401	.140	-	.4705
Konsentrasi 40%	-1.50000	.87401	.099	-	.3039
Konsentrasi 70%	-2.50000*	.87401	.009	-	-.6961
Konsentrasi 80%	-3.50000*	.87401	.001	-	-1.6961
Konsentrasi 90%	-4.33333*	.87401	.000	5.3039	-
Konsentrasi 100%	-5.66667*	.87401	.000	6.1372	-2.5295
Kontrol Positif	9.66667*	.87401	.000	7.4705	-3.8628
Kontrol Negatif	4.50000*	.87401	.000	7.8628	11.4705
Konsentrasi 10%	4.66667*	.87401	.000	2.8628	6.4705
Konsentrasi 20%	2.00000*	.87401	.031	.1961	3.8039
Konsentrasi 30%	1.33333	.87401	.140	-.4705	3.1372
Konsentrasi 40%	.00000	.87401	1.000	-	1.8039
Konsentrasi 50%	-.16667	.87401	.850	-	1.6372
Konsentrasi 70%	-1.16667	.87401	.194	-	.6372
Konsentrasi 80%	-2.16667*	.87401	.021	2.9705	-
Konsentrasi 90%	-	-	-	3.9705	-.3628



	Konsentrasi 100%	-3.00000*	.87401	.002	-	-1.1961
	Kontrol Positif	-4.33333*	.87401	.000	4.8039	-2.5295
	Kontrol Negatif	11.00000*	.87401	.000	6.1372	12.8039
	Konsentrasi 10%	4.50000*	.87401	.000	2.6961	6.3039
	Konsentrasi 20%	4.66667*	.87401	.000	2.8628	6.4705
	Konsentrasi 30%	2.00000*	.87401	.031	1.1961	3.8039
	Konsentrasi 40%	1.33333	.87401	.140	-.4705	3.1372
	Konsentrasi 50%	.00000	.87401	1.000	-	1.8039
	Konsentrasi 60%	-.16667	.87401	.850	1.8039	1.6372
	Konsentrasi 70%	-1.16667	.87401	.194	1.9705	.6372
	Konsentrasi 80%	-2.16667*	.87401	.021	2.9705	-.3628
	Konsentrasi 90%	-3.00000*	.87401	.002	3.9705	-1.1961
	Konsentrasi 100%	-4.33333*	.87401	.000	4.8039	-2.5295
	Kontrol Positif	11.00000*	.87401	.000	6.1372	12.8039
	Kontrol Negatif	4.66667*	.87401	.000	2.8628	6.4705
	Konsentrasi 10%	4.83333*	.87401	.000	3.0295	6.6372
	Konsentrasi 20%	2.16667*	.87401	.021	.3628	3.9705
	Konsentrasi 30%	1.50000	.87401	.099	-.3039	3.3039
	Konsentrasi 40%	.16667	.87401	.850	1.6372	1.9705
	Konsentrasi 50%					



Watermarkly

	Konsentrasi 60%	.166667	.87401	.850	-	1.9705
	Konsentrasi 80%	-1.00000	.87401	.264	-	.8039
	Konsentrasi 90%	-2.00000*	.87401	.031	-	-.1961
	Konsentrasi 100%	-2.83333*	.87401	.003	-	-1.0295
	Kontrol Positif	-4.16667*	.87401	.000	-	-2.3628
	Kontrol Negatif	11.16667*	.87401	.000	9.3628	12.9705
	Konsentrasi 10%	5.66667*	.87401	.000	3.8628	7.4705
	Konsentrasi 20%	5.83333*	.87401	.000	4.0295	7.6372
	Konsentrasi 30%	3.16667*	.87401	.001	1.3628	4.9705
	Konsentrasi 40%	2.50000*	.87401	.009	.6961	4.3039
	Konsentrasi 50%	1.16667	.87401	.194	-.6372	2.9705
Konsentrasi 80%	Konsentrasi 60%	1.16667	.87401	.194	-.6372	2.9705
	Konsentrasi 70%	1.00000	.87401	.264	-.8039	2.8039
	Konsentrasi 90%	-1.00000	.87401	.264	-	.8039
	Konsentrasi 100%	-1.83333*	.87401	.047	-	-.0295
	Kontrol Positif	-3.16667*	.87401	.001	-	-1.3628
	Kontrol Negatif	12.16667*	.87401	.000	10.362	13.9705
	Konsentrasi 10%	6.66667*	.87401	.000	4.8628	8.4705
Konsentrasi 90%	Konsentrasi 20%	6.83333*	.87401	.000	5.0295	8.6372



Konsentrasi 30%	4.16667*	.87401	.000	2.3628	5.9705
Konsentrasi 40%	3.50000*	.87401	.001	1.6961	5.3039
Konsentrasi 50%	2.16667*	.87401	.021	.3628	3.9705
Konsentrasi 60%	2.16667*	.87401	.021	.3628	3.9705
Konsentrasi 70%	2.00000*	.87401	.031	.1961	3.8039
Konsentrasi 80%	1.00000	.87401	.264	-.8039	2.8039
Konsentrasi 100%	-.83333	.87401	.350	-	.9705
Kontrol Positif	-2.16667*	.87401	.021	-	-.3628
Kontrol Negatif	13.16667*	.87401	.000	11.362	14.9705
Konsentrasi 10%	7.50000*	.87401	.000	5.6961	9.3039
Konsentrasi 20%	7.66667*	.87401	.000	5.8628	9.4705
Konsentrasi 30%	5.00000*	.87401	.000	3.1961	6.8039
Konsentrasi 40%	4.33333*	.87401	.000	2.5295	6.1372
Konsentrasi 50%	3.00000*	.87401	.002	1.1961	4.8039
Konsentrasi 60%	3.00000*	.87401	.002	1.1961	4.8039
Konsentrasi 70%	2.83333*	.87401	.003	1.0295	4.6372
Konsentrasi 80%	1.83333*	.87401	.047	.0295	3.6372
Konsentrasi 90%	.83333	.87401	.350	-.9705	2.6372
Kontrol Positif	-1.33333	.87401	.140	-	.4705



Watermarkly

	Kontrol Negatif	14.00000*	.87401	.000	12.196 1	15.8039
	Konsentrasi 10%	8.83333*	.87401	.000	7.0295	10.6372
	Konsentrasi 20%	9.00000*	.87401	.000	7.1961	10.8039
	Konsentrasi 30%	6.33333*	.87401	.000	4.5295	8.1372
	Konsentrasi 40%	5.66667*	.87401	.000	3.8628	7.4705
	Konsentrasi 50%	4.33333*	.87401	.000	2.5295	6.1372
Kontrol Positif	Konsentrasi 60%	4.33333*	.87401	.000	2.5295	6.1372
	Konsentrasi 70%	4.16667*	.87401	.000	2.3628	5.9705
	Konsentrasi 80%	3.16667*	.87401	.001	1.3628	4.9705
	Konsentrasi 90%	2.16667*	.87401	.021	.3628	3.9705
	Konsentrasi 100%	1.33333	.87401	.140	-.4705	3.1372
	Kontrol Negatif	15.33333*	.87401	.000	13.529 5	17.1372
	Konsentrasi 10%	-6.50000*	.87401	.000	-	-4.6961
	Konsentrasi 20%	-6.33333*	.87401	.000	-	-4.5295
Kontrol Negatif	Konsentrasi 30%	-9.00000*	.87401	.000	-	-7.1961
	Konsentrasi 40%	-9.66667*	.87401	.000	-	-7.8628
	Konsentrasi 50%	-11.00000*	.87401	.000	-	-9.1961



Watermarkly

Konsentrasi 60%	-11.00000*	.87401	.000	-	12.803	-9.1961
Konsentrasi 70%	-11.16667*	.87401	.000	-	12.970	-9.3628
Konsentrasi 80%	-12.16667*	.87401	.000	-	13.970	-10.3628
Konsentrasi 90%	-13.16667*	.87401	.000	-	14.970	-11.3628
Konsentrasi 100%	-14.00000*	.87401	.000	-	15.803	-12.1961
Kontrol Positif	-15.33333*	.87401	.000	-	17.137	-13.5295

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

8. Uji LSD *Escherichia coli*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

	(I) Variasi Konsentrasi	(J) Variasi Konsentrasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD Konsentrasi 10%		Konsentrasi 20%	-.66667*	.29155	.031	-	-.0649
		Konsentrasi 30%	-1.16667*	.29155	.001	-	-.5649
		Konsentrasi 40%	-1.33333*	.29155	.000	-	-.7316
		Konsentrasi 50%	-1.83333*	.29155	.000	-	-1.2316
		Konsentrasi 60%	-2.00000*	.29155	.000	-	-1.3983
						2.6017	



Watermarkly

	Konsentrasi 70%	-2.50000*	.29155	.000	-	3.1017	-1.8983
	Konsentrasi 80%	-3.00000*	.29155	.000	-	3.6017	-2.3983
	Konsentrasi 90%	-3.50000*	.29155	.000	-	4.1017	-2.8983
	Konsentrasi 100%	-4.16667*	.29155	.000	-	4.7684	-3.5649
	Kontrol Positif	-6.96667*	.29155	.000	-	7.5684	-6.3649
	Kontrol Negatif	2.16667*	.29155	.000	1.5649	2.7684	
	Konsentrasi 10%	.66667*	.29155	.031	.0649	1.2684	
	Konsentrasi 30%	-.50000	.29155	.099	-	1.1017	.1017
	Konsentrasi 40%	-.66667*	.29155	.031	-	1.2684	-.0649
	Konsentrasi 50%	-1.16667*	.29155	.001	-	1.7684	-.5649
	Konsentrasi 60%	-1.33333*	.29155	.000	-	1.9351	-.7316
Konsentrasi 20%	Konsentrasi 70%	-1.83333*	.29155	.000	-	2.4351	-1.2316
	Konsentrasi 80%	-2.33333*	.29155	.000	-	2.9351	-1.7316
	Konsentrasi 90%	-2.83333*	.29155	.000	-	3.4351	-2.2316
	Konsentrasi 100%	-3.50000*	.29155	.000	-	4.1017	-2.8983
	Kontrol Positif	-6.30000*	.29155	.000	-	6.9017	-5.6983
	Kontrol Negatif	2.83333*	.29155	.000	2.2316	3.4351	
	Konsentrasi 10%	1.16667*	.29155	.001	.5649	1.7684	
Konsentrasi 30%	Konsentrasi 20%	.50000	.29155	.099	-.1017	1.1017	



Watermarkly

	Konsentrasi 40%	-.16667	.29155	.573	-.7684	.4351
	Konsentrasi 50%	-.66667*	.29155	.031	-	-.0649
	Konsentrasi 60%	-.83333*	.29155	.009	-	-.2316
	Konsentrasi 70%	-1.33333*	.29155	.000	1.9351	-.7316
	Konsentrasi 80%	-1.83333*	.29155	.000	2.4351	-1.2316
	Konsentrasi 90%	-2.33333*	.29155	.000	2.9351	-1.7316
	Konsentrasi 100%	-3.00000*	.29155	.000	3.6017	-2.3983
	Kontrol Positif	-5.80000*	.29155	.000	6.4017	-5.1983
	Kontrol Negatif	3.33333*	.29155	.000	2.7316	3.9351
	Konsentrasi 10%	1.33333*	.29155	.000	.7316	1.9351
	Konsentrasi 20%	.66667*	.29155	.031	.0649	1.2684
	Konsentrasi 30%	.16667	.29155	.573	-.4351	.7684
	Konsentrasi 50%	-.50000	.29155	.099	-	.1017
	Konsentrasi 60%	-.66667*	.29155	.031	-	-.0649
Konsentrasi 40%	Konsentrasi 70%	-1.16667*	.29155	.001	-	-.5649
	Konsentrasi 80%	-1.66667*	.29155	.000	1.7684	-1.0649
	Konsentrasi 90%	-2.16667*	.29155	.000	2.2684	-1.5649
	Konsentrasi 100%	-2.83333*	.29155	.000	2.7684	-2.2316
	Kontrol Positif	-5.63333*	.29155	.000	3.4351	-5.0316
					6.2351	



Watermarkly

	Kontrol Negatif	3.50000*	.29155	.000	2.8983	4.1017
	Konsentrasi 10%	1.83333*	.29155	.000	1.2316	2.4351
	Konsentrasi 20%	1.16667*	.29155	.001	.5649	1.7684
	Konsentrasi 30%	.66667*	.29155	.031	.0649	1.2684
	Konsentrasi 40%	.50000	.29155	.099	-.1017	1.1017
	Konsentrasi 60%	-.16667	.29155	.573	-.7684	.4351
Konsentrasi 50%	Konsentrasi 70%	-.66667*	.29155	.031	-	-.0649
	Konsentrasi 80%	-1.16667*	.29155	.001	-	-.5649
	Konsentrasi 90%	-1.66667*	.29155	.000	1.7684	-1.0649
	Konsentrasi 100%	-2.33333*	.29155	.000	-	-1.7316
	Kontrol Positif	-5.13333*	.29155	.000	5.7351	-4.5316
	Kontrol Negatif	4.00000*	.29155	.000	3.3983	4.6017
	Konsentrasi 10%	2.00000*	.29155	.000	1.3983	2.6017
	Konsentrasi 20%	1.33333*	.29155	.000	.7316	1.9351
	Konsentrasi 30%	.83333*	.29155	.009	.2316	1.4351
	Konsentrasi 40%	.66667*	.29155	.031	.0649	1.2684
Konsentrasi 60%	Konsentrasi 50%	.16667	.29155	.573	-.4351	.7684
	Konsentrasi 70%	-.50000	.29155	.099	-	.1017
	Konsentrasi 80%	-1.00000*	.29155	.002	1.1017	-.3983



Watermarkly

	Konsentrasi 90%	-1.50000*	.29155	.000	-	.8983
	Konsentrasi 100%	-2.16667*	.29155	.000	-	-1.5649
	Kontrol Positif	-4.96667*	.29155	.000	-	-4.3649
	Kontrol Negatif	4.16667*	.29155	.000	3.5649	4.7684
	Konsentrasi 10%	2.50000*	.29155	.000	1.8983	3.1017
	Konsentrasi 20%	1.83333*	.29155	.000	1.2316	2.4351
	Konsentrasi 30%	1.33333*	.29155	.000	.7316	1.9351
	Konsentrasi 40%	1.16667*	.29155	.001	.5649	1.7684
	Konsentrasi 50%	.66667*	.29155	.031	.0649	1.2684
Konsentrasi 70%	Konsentrasi 60%	.50000	.29155	.099	-.1017	1.1017
	Konsentrasi 80%	-.50000	.29155	.099	-	.1017
	Konsentrasi 90%	-1.00000*	.29155	.002	-	-.3983
	Konsentrasi 100%	-1.66667*	.29155	.000	-	-1.0649
	Kontrol Positif	-4.46667*	.29155	.000	-	-3.8649
	Kontrol Negatif	4.66667*	.29155	.000	4.0649	5.2684
	Konsentrasi 10%	3.00000*	.29155	.000	2.3983	3.6017
	Konsentrasi 20%	2.33333*	.29155	.000	1.7316	2.9351
Konsentrasi 80%	Konsentrasi 30%	1.83333*	.29155	.000	1.2316	2.4351
	Konsentrasi 40%	1.66667*	.29155	.000	1.0649	2.2684



	Konsentrasi 50%	1.16667*	.29155	.001	.5649	1.7684
	Konsentrasi 60%	1.00000*	.29155	.002	.3983	1.6017
	Konsentrasi 70%	.50000	.29155	.099	-.1017	1.1017
	Konsentrasi 90%	-.50000	.29155	.099	-	.1017
	Konsentrasi 100%	-1.16667*	.29155	.001	-	-.5649
Konsentrasi 90%	Kontrol Positif	-3.96667*	.29155	.000	4.5684	-3.3649
	Kontrol Negatif	5.16667*	.29155	.000	4.5649	5.7684
	Konsentrasi 10%	3.50000*	.29155	.000	2.8983	4.1017
	Konsentrasi 20%	2.83333*	.29155	.000	2.2316	3.4351
	Konsentrasi 30%	2.33333*	.29155	.000	1.7316	2.9351
	Konsentrasi 40%	2.16667*	.29155	.000	1.5649	2.7684
	Konsentrasi 50%	1.66667*	.29155	.000	1.0649	2.2684
	Konsentrasi 60%	1.50000*	.29155	.000	.8983	2.1017
	Konsentrasi 70%	1.00000*	.29155	.002	.3983	1.6017
	Konsentrasi 80%	.50000	.29155	.099	-.1017	1.1017
Konsentrasi 100%	Konsentrasi 100%	-.66667*	.29155	.031	-	-.0649
	Kontrol Positif	-3.46667*	.29155	.000	-	-2.8649
	Kontrol Negatif	5.66667*	.29155	.000	5.0649	6.2684
	Konsentrasi 10%	4.16667*	.29155	.000	3.5649	4.7684



Watermarkly

	Konsentrasi 20%	3.50000*	.29155	.000	2.8983	4.1017
	Konsentrasi 30%	3.00000*	.29155	.000	2.3983	3.6017
	Konsentrasi 40%	2.83333*	.29155	.000	2.2316	3.4351
	Konsentrasi 50%	2.33333*	.29155	.000	1.7316	2.9351
	Konsentrasi 60%	2.16667*	.29155	.000	1.5649	2.7684
	Konsentrasi 70%	1.66667*	.29155	.000	1.0649	2.2684
	Konsentrasi 80%	1.16667*	.29155	.001	.5649	1.7684
	Konsentrasi 90%	.66667*	.29155	.031	.0649	1.2684
	Kontrol Positif	-2.80000*	.29155	.000	-3.4017	-2.1983
	Kontrol Negatif	6.33333*	.29155	.000	5.7316	6.9351
	Konsentrasi 10%	6.96667*	.29155	.000	6.3649	7.5684
	Konsentrasi 20%	6.30000*	.29155	.000	5.6983	6.9017
	Konsentrasi 30%	5.80000*	.29155	.000	5.1983	6.4017
	Konsentrasi 40%	5.63333*	.29155	.000	5.0316	6.2351
Kontrol Positif	Konsentrasi 50%	5.13333*	.29155	.000	4.5316	5.7351
	Konsentrasi 60%	4.96667*	.29155	.000	4.3649	5.5684
	Konsentrasi 70%	4.46667*	.29155	.000	3.8649	5.0684
	Konsentrasi 80%	3.96667*	.29155	.000	3.3649	4.5684
	Konsentrasi 90%	3.46667*	.29155	.000	2.8649	4.0684



Watermarkly

	Konsentrasi 100%	2.80000*	.29155	.000	2.1983	3.4017
	Kontrol Negatif	9.13333*	.29155	.000	8.5316	9.7351
	Konsentrasi 10%	-2.16667*	.29155	.000	-	-1.5649
	Konsentrasi 20%	-2.83333*	.29155	.000	-	-2.2316
	Konsentrasi 30%	-3.33333*	.29155	.000	3.9351	-2.7316
	Konsentrasi 40%	-3.50000*	.29155	.000	4.1017	-2.8983
	Konsentrasi 50%	-4.00000*	.29155	.000	-	-3.3983
	Konsentrasi 60%	-4.16667*	.29155	.000	-	-3.5649
	Konsentrasi 70%	-4.66667*	.29155	.000	4.7684	-4.0649
	Konsentrasi 80%	-5.16667*	.29155	.000	-	-4.5649
	Konsentrasi 90%	-5.66667*	.29155	.000	5.7684	-5.0649
	Konsentrasi 100%	-6.33333*	.29155	.000	-	-5.7316
	Kontrol Positif	-9.13333*	.29155	.000	-	9.7351

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

9. Uji Tukey *Staphylococcus aureus*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

Tukey HSD

(I) Variasi Konsentrasi	(J) Variasi Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi 10%	Konsentrasi 20%	.16667	.87401	1.000	-2.9847	3.3180
	Konsentrasi 30%	-.50000	.87401	1.000	-3.6513	2.6513
	Konsentrasi 40%	-1.16667	.87401	.965	-4.3180	1.9847

	Konsentrasi 50%	-2.50000	.87401	.217	-5.6513	.6513
	Konsentrasi 60%	-2.50000	.87401	.217	-5.6513	.6513
	Konsentrasi 70%	-2.66667	.87401	.154	-5.8180	.4847
	Konsentrasi 80%	-3.66667*	.87401	.013	-6.8180	-.5153
	Konsentrasi 90%	-4.66667*	.87401	.001	-7.8180	-1.5153
	Konsentrasi 100%	-5.50000*	.87401	.000	-8.6513	-2.3487
	Kontrol Positif	-6.83333*	.87401	.000	-9.9847	-3.6820
	Kontrol Negatif	8.50000*	.87401	.000	5.3487	11.6513
	Konsentrasi 10%	-.16667	.87401	1.000	-3.3180	2.9847
	Konsentrasi 30%	-.66667	.87401	1.000	-3.8180	2.4847
	Konsentrasi 40%	-1.33333	.87401	.919	-4.4847	1.8180
	Konsentrasi 50%	-2.66667	.87401	.154	-5.8180	.4847
	Konsentrasi 60%	-2.66667	.87401	.154	-5.8180	.4847
Konsentrasi 20%	Konsentrasi 70%	-2.83333	.87401	.106	-5.9847	.3180
	Konsentrasi 80%	-3.83333*	.87401	.009	-6.9847	-.6820
	Konsentrasi 90%	-4.83333*	.87401	.001	-7.9847	-1.6820
	Konsentrasi 100%	-5.66667*	.87401	.000	-8.8180	-2.5153
	Kontrol Positif	-7.00000*	.87401	.000	-10.1513	-3.8487
	Kontrol Negatif	8.33333*	.87401	.000	5.1820	11.4847
	Konsentrasi 10%	.50000	.87401	1.000	-2.6513	3.6513
	Konsentrasi 20%	.66667	.87401	1.000	-2.4847	3.8180
	Konsentrasi 40%	-.66667	.87401	1.000	-3.8180	2.4847
	Konsentrasi 50%	-2.00000	.87401	.509	-5.1513	1.1513
	Konsentrasi 60%	-2.00000	.87401	.509	-5.1513	1.1513
Konsentrasi 30%	Konsentrasi 70%	-2.16667	.87401	.397	-5.3180	.9847
	Konsentrasi 80%	-3.16667*	.87401	.048	-6.3180	-.0153
	Konsentrasi 90%	-4.16667*	.87401	.003	-7.3180	-1.0153
	Konsentrasi 100%	-5.00000*	.87401	.000	-8.1513	-1.8487
	Kontrol Positif	-6.33333*	.87401	.000	-9.4847	-3.1820
	Kontrol Negatif	9.00000*	.87401	.000	5.8487	12.1513
	Konsentrasi 10%	1.16667	.87401	.965	-1.9847	4.3180
	Konsentrasi 20%	1.33333	.87401	.919	-1.8180	4.4847
	Konsentrasi 30%	.66667	.87401	1.000	-2.4847	3.8180
	Konsentrasi 50%	-1.33333	.87401	.919	-4.4847	1.8180
Konsentrasi 40%	Konsentrasi 60%	-1.33333	.87401	.919	-4.4847	1.8180
	Konsentrasi 70%	-1.50000	.87401	.844	-4.6513	1.6513
	Konsentrasi 80%	-2.50000	.87401	.217	-5.6513	.6513
	Konsentrasi 90%	-3.50000*	.87401	.021	-6.6513	-.3487
	Konsentrasi 100%	-4.33333*	.87401	.002	-7.4847	-1.1820
	Kontrol Positif	-5.66667*	.87401	.000	-8.8180	-2.5153



Analisis Regresi Linier Sederhana						
Konsentrasi	Variabel	Koeffisien Regresi		Statistik Uji		
		B	t	S.E. B	t Stat	P > t
Konsentrasi 50%	Kontrol Negatif	9.66667*	.87401	.000	6.5153	12.8180
	Konsentrasi 10%	2.50000	.87401	.217	-.6513	5.6513
	Konsentrasi 20%	2.66667	.87401	.154	-.4847	5.8180
	Konsentrasi 30%	2.00000	.87401	.509	-1.1513	5.1513
	Konsentrasi 40%	1.33333	.87401	.919	-1.8180	4.4847
	Konsentrasi 60%	.00000	.87401	1.000	-3.1513	3.1513
	Konsentrasi 70%	-.16667	.87401	1.000	-3.3180	2.9847
	Konsentrasi 80%	-1.16667	.87401	.965	-4.3180	1.9847
	Konsentrasi 90%	-2.16667	.87401	.397	-5.3180	.9847
	Konsentrasi 100%	-3.00000	.87401	.072	-6.1513	.1513
	Kontrol Positif	-4.33333*	.87401	.002	-7.4847	-1.1820
	Kontrol Negatif	11.00000*	.87401	.000	7.8487	14.1513
	Konsentrasi 10%	2.50000	.87401	.217	-.6513	5.6513
	Konsentrasi 20%	2.66667	.87401	.154	-.4847	5.8180
	Konsentrasi 30%	2.00000	.87401	.509	-1.1513	5.1513
Konsentrasi 60%	Konsentrasi 40%	1.33333	.87401	.919	-1.8180	4.4847
	Konsentrasi 50%	.00000	.87401	1.000	-3.1513	3.1513
	Konsentrasi 70%	-.16667	.87401	1.000	-3.3180	2.9847
	Konsentrasi 80%	-1.16667	.87401	.965	-4.3180	1.9847
	Konsentrasi 90%	-2.16667	.87401	.397	-5.3180	.9847
	Konsentrasi 100%	-3.00000	.87401	.072	-6.1513	.1513
	Kontrol Positif	-4.33333*	.87401	.002	-7.4847	-1.1820
	Kontrol Negatif	11.00000*	.87401	.000	7.8487	14.1513
	Konsentrasi 10%	2.66667	.87401	.154	-.4847	5.8180
	Konsentrasi 20%	2.83333	.87401	.106	-.3180	5.9847
	Konsentrasi 30%	2.16667	.87401	.397	-.9847	5.3180
	Konsentrasi 40%	1.50000	.87401	.844	-1.6513	4.6513
	Konsentrasi 50%	.16667	.87401	1.000	-2.9847	3.3180
Konsentrasi 70%	Konsentrasi 60%	.16667	.87401	1.000	-2.9847	3.3180
	Konsentrasi 80%	-1.00000	.87401	.989	-4.1513	2.1513
	Konsentrasi 90%	-2.00000	.87401	.509	-5.1513	1.1513
	Konsentrasi 100%	-2.83333	.87401	.106	-5.9847	.3180
	Kontrol Positif	-4.16667*	.87401	.003	-7.3180	-1.0153
	Kontrol Negatif	11.16667*	.87401	.000	8.0153	14.3180
	Konsentrasi 10%	3.66667*	.87401	.013	.5153	6.8180
	Konsentrasi 20%	3.83333*	.87401	.009	.6820	6.9847
	Konsentrasi 30%	3.16667*	.87401	.048	.0153	6.3180
	Konsentrasi 40%	2.50000	.87401	.217	-.6513	5.6513
	Konsentrasi 50%	1.16667	.87401	.965	-1.9847	4.3180
	Konsentrasi 60%	1.16667	.87401	.965	-1.9847	4.3180



Analisis Regresi Linier Sederhana						
Variabel	Kategori	Bentuk Model		Hasil Analisis		
		Bentuk Model A	Bentuk Model B	Beta	T Statistik	P Value
Konsentrasi	Konsentrasi 70%	1.00000	.87401	.989	-2.1513	4.1513
	Konsentrasi 90%	-1.00000	.87401	.989	-4.1513	2.1513
	Konsentrasi 100%	-1.83333	.87401	.629	-4.9847	1.3180
	Kontrol Positif	-3.16667*	.87401	.048	-6.3180	-.0153
	Kontrol Negatif	12.16667*	.87401	.000	9.0153	15.3180
	Konsentrasi 10%	4.66667*	.87401	.001	1.5153	7.8180
	Konsentrasi 20%	4.83333*	.87401	.001	1.6820	7.9847
	Konsentrasi 30%	4.16667*	.87401	.003	1.0153	7.3180
	Konsentrasi 40%	3.50000*	.87401	.021	.3487	6.6513
	Konsentrasi 50%	2.16667	.87401	.397	-.9847	5.3180
	Konsentrasi 60%	2.16667	.87401	.397	-.9847	5.3180
	Konsentrasi 70%	2.00000	.87401	.509	-1.1513	5.1513
	Konsentrasi 80%	1.00000	.87401	.989	-2.1513	4.1513
	Konsentrasi 100%	-.83333	.87401	.997	-3.9847	2.3180
	Kontrol Positif	-2.16667	.87401	.397	-5.3180	.9847
	Kontrol Negatif	13.16667*	.87401	.000	10.0153	16.3180
Konsentrasi 100%	Konsentrasi 10%	5.50000*	.87401	.000	2.3487	8.6513
	Konsentrasi 20%	5.66667*	.87401	.000	2.5153	8.8180
	Konsentrasi 30%	5.00000*	.87401	.000	1.8487	8.1513
	Konsentrasi 40%	4.33333*	.87401	.002	1.1820	7.4847
	Konsentrasi 50%	3.00000	.87401	.072	-.1513	6.1513
	Konsentrasi 60%	3.00000	.87401	.072	-.1513	6.1513
	Konsentrasi 70%	2.83333	.87401	.106	-.3180	5.9847
	Konsentrasi 80%	1.83333	.87401	.629	-1.3180	4.9847
	Konsentrasi 90%	.83333	.87401	.997	-2.3180	3.9847
	Kontrol Positif	-1.33333	.87401	.919	-4.4847	1.8180
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	14.00000*	.87401	.000	10.8487	17.1513
	Konsentrasi 10%	6.83333*	.87401	.000	3.6820	9.9847
	Konsentrasi 20%	7.00000*	.87401	.000	3.8487	10.1513
	Konsentrasi 30%	6.33333*	.87401	.000	3.1820	9.4847
	Konsentrasi 40%	5.66667*	.87401	.000	2.5153	8.8180
	Konsentrasi 50%	4.33333*	.87401	.002	1.1820	7.4847
	Konsentrasi 60%	4.33333*	.87401	.002	1.1820	7.4847
	Konsentrasi 70%	4.16667*	.87401	.003	1.0153	7.3180
	Konsentrasi 80%	3.16667*	.87401	.048	.0153	6.3180
	Konsentrasi 90%	2.16667	.87401	.397	-.9847	5.3180
Kontrol Negatif	Konsentrasi 100%	1.33333	.87401	.919	-1.8180	4.4847
	Kontrol Negatif	15.33333*	.87401	.000	12.1820	18.4847
Kontrol Negatif	Konsentrasi 10%	-8.50000*	.87401	.000	-11.6513	-5.3487
	Konsentrasi 20%	-8.33333*	.87401	.000	-11.4847	-5.1820



Konsentrasi 30%	-9.00000*	.87401	.000	-12.1513	-5.8487
Konsentrasi 40%	-9.66667*	.87401	.000	-12.8180	-6.5153
Konsentrasi 50%	-11.00000*	.87401	.000	-14.1513	-7.8487
Konsentrasi 60%	-11.00000*	.87401	.000	-14.1513	-7.8487
Konsentrasi 70%	-11.16667*	.87401	.000	-14.3180	-8.0153
Konsentrasi 80%	-12.16667*	.87401	.000	-15.3180	-9.0153
Konsentrasi 90%	-13.16667*	.87401	.000	-16.3180	-10.0153
Konsentrasi 100%	-14.00000*	.87401	.000	-17.1513	-10.8487
Kontrol Positif	-15.33333*	.87401	.000	-18.4847	-12.1820

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

10. Uji Tukey *Escherichia coli*

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

Tukey HSD

(I) Variasi Konsentrasi	(J) Variasi Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Konsentrasi 10%	Konsentrasi 20%	-.66667	.29155	.510	-1.7179	.3845
	Konsentrasi 30%	-1.16667*	.29155	.021	-2.2179	-.1155
	Konsentrasi 40%	-1.33333*	.29155	.005	-2.3845	-.2821
	Konsentrasi 50%	-1.83333*	.29155	.000	-2.8845	-.7821
	Konsentrasi 60%	-2.00000*	.29155	.000	-3.0512	-.9488
	Konsentrasi 70%	-2.50000*	.29155	.000	-3.5512	-1.4488
	Konsentrasi 80%	-3.00000*	.29155	.000	-4.0512	-1.9488
	Konsentrasi 90%	-3.50000*	.29155	.000	-4.5512	-2.4488
	Konsentrasi 100%	-4.16667*	.29155	.000	-5.2179	-3.1155
	Kontrol Positif	-6.96667*	.29155	.000	-8.0179	-5.9155
Konsentrasi 20%	Kontrol Negatif	2.16667*	.29155	.000	1.1155	3.2179
	Konsentrasi 10%	.66667	.29155	.510	-.3845	1.7179
	Konsentrasi 30%	-.50000	.29155	.845	-1.5512	.5512
	Konsentrasi 40%	-.66667	.29155	.510	-1.7179	.3845
	Konsentrasi 50%	-1.16667*	.29155	.021	-2.2179	-.1155
	Konsentrasi 60%	-1.33333*	.29155	.005	-2.3845	-.2821
	Konsentrasi 70%	-1.83333*	.29155	.000	-2.8845	-.7821
	Konsentrasi 80%	-2.33333*	.29155	.000	-3.3845	-1.2821
	Konsentrasi 90%	-2.83333*	.29155	.000	-3.8845	-1.7821



	Konsentrasi 100%	-3.50000*	.29155	.000	-4.5512	-2.4488
	Kontrol Positif	-6.30000*	.29155	.000	-7.3512	-5.2488
	Kontrol Negatif	2.83333*	.29155	.000	1.7821	3.8845
	Konsentrasi 10%	1.16667*	.29155	.021	.1155	2.2179
	Konsentrasi 20%	.50000	.29155	.845	-.5512	1.5512
	Konsentrasi 40%	-.16667	.29155	1.000	-1.2179	.8845
	Konsentrasi 50%	-.66667	.29155	.510	-1.7179	.3845
	Konsentrasi 60%	-.83333	.29155	.218	-1.8845	.2179
Konsentrasi 30%	Konsentrasi 70%	-1.33333*	.29155	.005	-2.3845	-.2821
	Konsentrasi 80%	-1.83333*	.29155	.000	-2.8845	-.7821
	Konsentrasi 90%	-2.33333*	.29155	.000	-3.3845	-1.2821
	Konsentrasi 100%	-3.00000*	.29155	.000	-4.0512	-1.9488
	Kontrol Positif	-5.80000*	.29155	.000	-6.8512	-4.7488
	Kontrol Negatif	3.33333*	.29155	.000	2.2821	4.3845
	Konsentrasi 10%	1.33333*	.29155	.005	.2821	2.3845
	Konsentrasi 20%	.66667	.29155	.510	-.3845	1.7179
	Konsentrasi 30%	.16667	.29155	1.000	-.8845	1.2179
	Konsentrasi 50%	-.50000	.29155	.845	-1.5512	.5512
	Konsentrasi 60%	-.66667	.29155	.510	-1.7179	.3845
Konsentrasi 40%	Konsentrasi 70%	-1.16667*	.29155	.021	-2.2179	-.1155
	Konsentrasi 80%	-1.66667*	.29155	.000	-2.7179	-.6155
	Konsentrasi 90%	-2.16667*	.29155	.000	-3.2179	-1.1155
	Konsentrasi 100%	-2.83333*	.29155	.000	-3.8845	-1.7821
	Kontrol Positif	-5.63333*	.29155	.000	-6.6845	-4.5821
	Kontrol Negatif	3.50000*	.29155	.000	2.4488	4.5512
	Konsentrasi 10%	1.83333*	.29155	.000	.7821	2.8845
	Konsentrasi 20%	1.16667*	.29155	.021	.1155	2.2179
	Konsentrasi 30%	.66667	.29155	.510	-.3845	1.7179
	Konsentrasi 40%	.50000	.29155	.845	-.5512	1.5512
	Konsentrasi 60%	-.16667	.29155	1.000	-1.2179	.8845
Konsentrasi 50%	Konsentrasi 70%	-.66667	.29155	.510	-1.7179	.3845
	Konsentrasi 80%	-1.16667*	.29155	.021	-2.2179	-.1155
	Konsentrasi 90%	-1.66667*	.29155	.000	-2.7179	-.6155
	Konsentrasi 100%	-2.33333*	.29155	.000	-3.3845	-1.2821
	Kontrol Positif	-5.13333*	.29155	.000	-6.1845	-4.0821
	Kontrol Negatif	4.00000*	.29155	.000	2.9488	5.0512
	Konsentrasi 10%	2.00000*	.29155	.000	.9488	3.0512
	Konsentrasi 20%	1.33333*	.29155	.005	.2821	2.3845
	Konsentrasi 30%	.83333	.29155	.218	-.2179	1.8845
Konsentrasi 60%	Konsentrasi 40%	.66667	.29155	.510	-.3845	1.7179



	Konsentrasi 50%	.16667	.29155	1.000	-.8845	1.2179
	Konsentrasi 70%	-.50000	.29155	.845	-1.5512	.5512
	Konsentrasi 80%	-1.00000	.29155	.073	-2.0512	.0512
	Konsentrasi 90%	-1.50000*	.29155	.001	-2.5512	-.4488
	Konsentrasi 100%	-2.16667*	.29155	.000	-3.2179	-1.1155
	Kontrol Positif	-4.96667*	.29155	.000	-6.0179	-3.9155
	Kontrol Negatif	4.16667*	.29155	.000	3.1155	5.2179
	Konsentrasi 10%	2.50000*	.29155	.000	1.4488	3.5512
	Konsentrasi 20%	1.83333*	.29155	.000	.7821	2.8845
	Konsentrasi 30%	1.33333*	.29155	.005	.2821	2.3845
	Konsentrasi 40%	1.16667*	.29155	.021	.1155	2.2179
	Konsentrasi 50%	.66667	.29155	.510	-.3845	1.7179
Konsentrasi 70%	Konsentrasi 60%	.50000	.29155	.845	-.5512	1.5512
	Konsentrasi 80%	-.50000	.29155	.845	-1.5512	.5512
	Konsentrasi 90%	-1.00000	.29155	.073	-2.0512	.0512
	Konsentrasi 100%	-1.66667*	.29155	.000	-2.7179	-.6155
	Kontrol Positif	-4.46667*	.29155	.000	-5.5179	-3.4155
	Kontrol Negatif	4.66667*	.29155	.000	3.6155	5.7179
	Konsentrasi 10%	3.00000*	.29155	.000	1.9488	4.0512
	Konsentrasi 20%	2.33333*	.29155	.000	1.2821	3.3845
	Konsentrasi 30%	1.83333*	.29155	.000	.7821	2.8845
	Konsentrasi 40%	1.66667*	.29155	.000	.6155	2.7179
	Konsentrasi 50%	1.16667*	.29155	.021	.1155	2.2179
Konsentrasi 80%	Konsentrasi 60%	1.00000	.29155	.073	-.0512	2.0512
	Konsentrasi 70%	.50000	.29155	.845	-.5512	1.5512
	Konsentrasi 90%	-.50000	.29155	.845	-1.5512	.5512
	Konsentrasi 100%	-1.16667*	.29155	.021	-2.2179	-.1155
	Kontrol Positif	-3.96667*	.29155	.000	-5.0179	-2.9155
	Kontrol Negatif	5.16667*	.29155	.000	4.1155	6.2179
	Konsentrasi 10%	3.50000*	.29155	.000	2.4488	4.5512
	Konsentrasi 20%	2.83333*	.29155	.000	1.7821	3.8845
	Konsentrasi 30%	2.33333*	.29155	.000	1.2821	3.3845
	Konsentrasi 40%	2.16667*	.29155	.000	1.1155	3.2179
	Konsentrasi 50%	1.66667*	.29155	.000	.6155	2.7179
Konsentrasi 90%	Konsentrasi 60%	1.50000*	.29155	.001	.4488	2.5512
	Konsentrasi 70%	1.00000	.29155	.073	-.0512	2.0512
	Konsentrasi 80%	.50000	.29155	.845	-.5512	1.5512
	Konsentrasi 100%	-.66667	.29155	.510	-1.7179	.3845
	Kontrol Positif	-3.46667*	.29155	.000	-4.5179	-2.4155
	Kontrol Negatif	5.66667*	.29155	.000	4.6155	6.7179



Analisis Regresi Linier Sederhana (ANALISIS REGRESI LINIER SEDERHANA)						
Konsentrasi 10%	4.16667*	.29155	.000	3.1155	5.2179	
Konsentrasi 20%	3.50000*	.29155	.000	2.4488	4.5512	
Konsentrasi 30%	3.00000*	.29155	.000	1.9488	4.0512	
Konsentrasi 40%	2.83333*	.29155	.000	1.7821	3.8845	
Konsentrasi 50%	2.33333*	.29155	.000	1.2821	3.3845	
Konsentrasi 60%	2.16667*	.29155	.000	1.1155	3.2179	
Konsentrasi 70%	1.66667*	.29155	.000	.6155	2.7179	
Konsentrasi 80%	1.16667*	.29155	.021	.1155	2.2179	
Konsentrasi 90%	.66667	.29155	.510	-.3845	1.7179	
Kontrol Positif	-2.80000*	.29155	.000	-3.8512	-1.7488	
Kontrol Negatif	6.33333*	.29155	.000	5.2821	7.3845	
Konsentrasi 10%	6.96667*	.29155	.000	5.9155	8.0179	
Konsentrasi 20%	6.30000*	.29155	.000	5.2488	7.3512	
Konsentrasi 30%	5.80000*	.29155	.000	4.7488	6.8512	
Konsentrasi 40%	5.63333*	.29155	.000	4.5821	6.6845	
Konsentrasi 50%	5.13333*	.29155	.000	4.0821	6.1845	
Kontrol Positif	Konsentrasi 60%	4.96667*	.29155	.000	3.9155	6.0179
	Konsentrasi 70%	4.46667*	.29155	.000	3.4155	5.5179
	Konsentrasi 80%	3.96667*	.29155	.000	2.9155	5.0179
	Konsentrasi 90%	3.46667*	.29155	.000	2.4155	4.5179
	Konsentrasi 100%	2.80000*	.29155	.000	1.7488	3.8512
	Kontrol Negatif	9.13333*	.29155	.000	8.0821	10.1845
	Konsentrasi 10%	-2.16667*	.29155	.000	-3.2179	-1.1155
	Konsentrasi 20%	-2.83333*	.29155	.000	-3.8845	-1.7821
	Konsentrasi 30%	-3.33333*	.29155	.000	-4.3845	-2.2821
	Konsentrasi 40%	-3.50000*	.29155	.000	-4.5512	-2.4488
	Konsentrasi 50%	-4.00000*	.29155	.000	-5.0512	-2.9488
Kontrol Negatif	Konsentrasi 60%	-4.16667*	.29155	.000	-5.2179	-3.1155
	Konsentrasi 70%	-4.66667*	.29155	.000	-5.7179	-3.6155
	Konsentrasi 80%	-5.16667*	.29155	.000	-6.2179	-4.1155
	Konsentrasi 90%	-5.66667*	.29155	.000	-6.7179	-4.6155
	Konsentrasi 100%	-6.33333*	.29155	.000	-7.3845	-5.2821
	Kontrol Positif	-9.13333*	.29155	.000	-10.1845	-8.0821

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



Watermarkly

11. *Homogeneous Subset Staphylococcus aureus*

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD^a

Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Kontrol Negatif	3	.0000					
Konsentrasi 20%	3		1.8333				
Konsentrasi 10%	3			3.0000			
Konsentrasi 30%	3				6.8300		
Konsentrasi 40%	3					7.8333	
Konsentrasi 50%	3						8.8333
Konsentrasi 60%	3						9.5000
Konsentrasi 70%	3						9.5000
Konsentrasi 80%	3						10.6667
Konsentrasi 90%	3						10.6667
Konsentrasi 100%	3						11.5000
Kontrol Positif	3						11.6667
Sig.		1.000	106	.217	.072	.057	.397

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

12. *Homogeneous Subset Escherichia coli*

Diameter Zona Hambat

Tukey HSD^a

Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrol Negatif	3	.0000								
Konsentrasi 10%	3		0.8333							
Konsentrasi 20%	3			2.5000	2.5000					
Konsentrasi 40%	3				3.1777					
Konsentrasi 30%	3					4.1777	4.1777			
Konsentrasi 50%	3							4.3777		



Watermarkly

Konsentrasi 60%	3			4.6777	4.6777				
Konsentrasi 70%	3				4.6777	4.6777			
Konsentrasi 80%	3					5.3333	5.3333		
Konsentrasi 90%	3						5.6667		
Konsentrasi 100%	3							6.0000	
Kontrol Positif	3								9.1777
Sig.		1.000	.510	.510	.218	.510	.073	.073	.510
									1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.