

**Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi  
Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan  
Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli***

**SKRIPSI**



Oleh :

**PUTRI INDAH PRATIWI**

**1913206039**

**PROGRAM STUDI SI FARMASI**

**STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

**TULUNGAGUNG**

**JULI 2023**

**Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi  
Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan  
Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli***

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi  
(S.Farm.) Program Studi S1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa



Oleh :

**PUTRI INDAH PRATIWI**

**1913206039**

**PROGRAM STUDI SI FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA**

**TULUNGAGUNG**

**JULI 2023**

HALAMAN PERSETUJUAN

**Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli***

SKRIPSI

Yang diajukan oleh :

PUTRI INDAH PRATIWI

1913206039

Yang disetujui oleh :

Pembimbing Utama

apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm.

NIDN. 07 191298 06

Pembimbing Pendamping

Afdatul Muadifah, M. Si.

NIDN. 07 080391 02

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

**Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi  
Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan  
Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri  
*Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli***

Oleh :

PUTRI INDAH PRATIWI

1913206039

Telah lulus uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji

Skripsi

Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : .....

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, 17 April 2023

Penulis

Putri Indah Pratiwi

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan Syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “**Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*”**. Penulis menyadari bahwa dalam proses menyelesaikan proposal penelitian ini membutuhkan waktu yang tidak sebentar, yang juga menyita tenaga dan pikiran. Penulisan proposal penelitian ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Jurusan S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKes) Karya Putra Bangsa.

Dalam penyusunan skripsi ini, dari awal hingga akhir telah banyak pihak yang memberikan dukungan dan masukan bagi penulis. Dengan segala kerendahan hati, ucapan terima kasih yang tak terhingga, wajib saya berikan 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 utama yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Afidatul Muadifah., M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan saran dan masukan selama penyusunan skripsi.
5. Seluruh Dosen Pengajar dan staf di Program Sarjana Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa
6. Kedua orang tua saya Bapak Suparlan dan Ibu Yasriani yang telah memberikan dukungan, semangat dan doa dalam penyusunan skripsi.
7. Kedua kakak saya Novita Ike Suyastika dan Bela Janitasari yang telah mendukung dan memotivasi dalam penyusunan skripsi.

8. Diri saya sendiri, yang telah mampu kooperatif dalam menyusun skripsi ini. Terimakasih karena mampu melawan malas dan selalu berpikir positif dalam keadaan apapun.
9. Teman kelompok saya Mursyidah dan Windu yang telah memberikan semangat serta saran dalam penelitian sampai penyusunan skripsi.
10. Teman-teman Angkatan 2019 yang telah memberikan dukungandan semangat selama penyusunan skripsi.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang lebih baik atas semua yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Dengan kerendahan hati, penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu farmasi khususnya dan ilmu pengetahuan pada umumnya, bagi penyusun maupun pembaca.

Tulungagung, 17 April 2023

Penulis

Putri Indah Pratiwi

**Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli***

**Putri Indah Pratiwi**

**Prodi SI Farmasi**

**INTISARI**

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) telah terbukti berkhasiat sebagai antibakteri yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kandungan yang terdapat di dalam tanaman buah belimbing wuluh dan daun sirih yang memiliki khasiat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, dan saponin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh suhu pemanasan dan variasi konsentrasi terhadap aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menggunakan perbandingan 1:2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode hidroekstraksi dengan variasi suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 90°C serta dengan variasi konsentrasi 10%, 50%, dan 100%. Uji yang dilakukan pada aktivitas antibakteri dengan menggunakan difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki aktivitas daya hambat optimum pada suhu 50°C pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 25,5 mm yang bersifat sangat kuat dan dengan diameter hambat *Escherichia coli* sebesar 22,17 mm yang bersifat kuat.

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

**The Effect of Heating Temperature and Variation of Concentration Combination of Carambola Fruit Extract (*Averrhoa bilimbi L.*) and Betel Leaf (*Piper betle*) against *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli Bacteria***

**Putri Indah Pratiwi**

**Bachelor of Pharmacy**

**ABSTRACT**

Carambola fruit (*Averrhoa bilimbi L.*) and betel leaf (*Piper betle*) have been shown to have antibacterial properties that can inhibit *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The ingredients in the starfruit plant and betel leaf that have antibacterial properties are flavonoids, tannins, alkaloids, terpenoids, and saponins. This study aimed to determine the effect of heating temperature and concentration variations on the antibacterial activity of a combination of starfruit extract and betel leaf using a ratio of 1:2 against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The method used in this study was the hydro extraction method with variations in temperature of 40°C, 50°C, 60°C, and 90°C with variations in concentrations of 10%, 50%, and 100%. Tests were carried out on antibacterial activity using disc diffusion. The results showed that the combination of starfruit and betel leaf extracts had optimum inhibitory activity at 50°C at a concentration of 100% with an inhibition diameter of 25.5 mm for *Staphylococcus aureus*, which was very strong and with a diameter of *Escherichia coli* inhibition of 22.17 mm which is strong.

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

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	iv
INTISARI .....	ivii
ABSTRACT.....	iviii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR PERSAMAAN .....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Batasan Masalah .....	4
1.5 Relevansi Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Uraian Tanaman Buah Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi L.</i> ).....	6
2.1.1    Klasifikasi .....	6
2.1.2    Morfologi .....	7
2.1.3    Manfaat atau Khasiat.....	7
2.1.4    Kandungan Kimia .....	8
2.2 Uraian Tanaman Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> ).....	8
2.2.1    Klasifikasi .....	8
2.2.2    Morfologi .....	9

2.2.3	Manfaat atau Khasiat.....	10
2.2.4	Kandungan Kimia .....	10
2.3	Bakteri.....	10
2.3.1	<i>Staphylococcus Aureus</i> .....	11
2.3.2	<i>Escherichia Coli</i> .....	12
2.4	Ekstraksi.....	13
2.4.1	Hydroekstraksi .....	14
2.5	Pelarut .....	14
2.5.1	Aquades.....	14
2.6	Skrining Fitokimia .....	15
2.6.1	Flavonoid.....	15
2.6.2	Tanin .....	16
2.6.3	Alkaloid.....	17
2.6.4	Terpenoid .....	18
2.6.5	Saponin.....	19
2.7	Antibakteri .....	20
2.7.1	Mekanisme Kerja Antibakteri.....	20
2.8	Uji Aktivitas Antibakteri.....	21
2.8.1	Metode Difusi.....	22
2.9	Obat Antibakteri Kloramphenicol.....	22
2.10	Hipotesis .....	24
BAB III METODE PENELITIAN .....		25
3.1	Bahan .....	25
3.2	Alat.....	25
3.3	Populasi Penelitian.....	25
3.4	Sampel Penelitian.....	25
3.5	Variabel Penelitian.....	26
3.5.1	Variabel Bebas .....	26
3.5.2	Variabel Kontrol.....	26

3.5.3	Variabel Terikat .....	26
3.6	Metode Penelitian .....	27
3.6.1	Determinasi Tanaman .....	27
3.6.2	Pembuatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Hijau .....	27
3.7	Skrining Fitokimia .....	28
3.7.1	Flavonoid.....	28
3.7.2	Tanin .....	28
3.7.3	Terpenoid .....	28
3.7.4	Alkaloid.....	28
3.7.5	Saponin.....	29
3.8	Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Hijau .....	29
3.8.1	Sterilisasi Alat dan Bahan .....	29
3.8.2	Pembuatan Larutan Kontrol Uji .....	29
3.8.3	Pembuatan Media <i>Nutrien Agar</i> (NA) .....	30
3.8.4	Pembuatan Media <i>Nutrien Broth</i> (NB) .....	30
3.8.5	Inokulasi Bakteri .....	31
3.8.6	Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	31
3.8.7	Pengukuran Zona Hambat.....	31
3.9	Analisis Data.....	32
3.9.1	Uji Normalitas Data .....	32
3.9.2	Uji Homogenitas .....	32
3.9.3	Uji <i>One Way Anova</i> .....	33
3.9.4	Uji <i>Post Hoc</i> LSD .....	33
3.9.5	Uji <i>Kruskal-Wallis</i> .....	33
3.10	Kerangka Penelitian .....	35
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		36
4.1	Determinasi Tanaman .....	36
4.2	Pembuatan Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih .....	37

4.3	Skrining Fitokimia .....	38
4.4	Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	49
4.5	Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	52
4.6	Analisis Data .....	56
4.6.1	Diagram Alir .....	56
4.6.2	<i>Statistical Package for the Sosial Sciences (SPSS)</i> .....	56
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		64
5.1	Kessimpulan.....	56
5.2	Saran .....	56
DAFTAR PUSTAKA .....		65
LAMPIRAN.....		65

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2. 1</b> Buah Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi L</i> ).....	6
<b>Gambar 2. 2</b> Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> ).....	9
<b>Gambar 2. 3</b> Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
<b>Gambar 2. 4</b> Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	12
<b>Gambar 2. 5</b> Stuktur Kimia Flavonoid .....	16
<b>Gambar 2. 6</b> Struktur Kimia Tanin .....	17
<b>Gambar 2. 7</b> Struktur Kimia Alkaloid .....	18
<b>Gambar 2. 8</b> Struktur Kimia Terpenoid.....	19
<b>Gambar 2. 9</b> Struktur Kimia Saponin .....	19
<b>Gambar 3. 1</b> Kerangka Penelitian.....	35
<b>Gambar 4.1</b> Uji Skrining Fitokimia Flavonoid.....	40
<b>Gambar 4.2</b> Uji Skrining Fitokimia Alkoloid.....	42
<b>Gambar 4.3</b> Uji Skrining Fitokimia tanin.....	44
<b>Gambar 4.4</b> Uji Skrining Fitokimia Terpenoid. ....	46
<b>Gambar 4.5</b> Uji Skrining Fitokimia Saponin.....	48
<b>Gambar 4.6</b> Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	51
<b>Gambar 4.7</b> Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. ....	54
<b>Gambar 4.8</b> Rata-Rata Zona Hambat Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Terhadap Pengaruh Suhu dan Konsentrasi.....	57
<b>Gambar 4.9</b> Rata-Rata Zona Hambat Bakteri <i>Escherichia coli</i> Terhadap Pengaruh Suhu dan Konsentrasi.....	58

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2. 1</b> Hasil Analisis Uji Fitokimia Ekstrak Buah Belimbing Wuluh .....	8
<b>Tabel 2. 2</b> Kategori Diameter Zona Hambat .....	39
<b>Tabel 4.1</b> Hasil Uji Skrining Fitokimia Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih .....	39
<b>Tabel 4.2</b> Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	50
<b>Tabel 4.3</b> Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	52
<b>Tabel 4.4</b> Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	59
<b>Tabel 4.5</b> Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	59
<b>Tabel 4.6</b> Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	60
<b>Tabel 4.7</b> Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	60
<b>Tabel 4.8</b> Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	61
<b>Tabel 4.9</b> Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	61
<b>Tabel 4.10</b> Hasil Uji <i>Duncan</i> Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	62
<b>Tabel 4.11</b> Hasil Uji <i>Duncan</i> Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	62

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 .....32



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Sejak awal mula peradapan manusia ruang lingkup kajian bahan alam yaitu manusia dan alam sudah saling berinteraksi. Interaksi ini berupa penemuan kebutuhan dasar hingga pada kebutuhan penunjang lainnya. Ekstrak bahan alam merupakan obat tradisional yang disajikan dari ekstrak atau penyaringan bahan alam yang dapat berupa tanaman obat, binatang, maupun mineral (Najib, 2018).

Indonesia memiliki berbagai macam tanaman yang sebenarnya dapat memberi manfaat tetapi belum dibudidayakan secara khusus. Diantaranya ada belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Tanaman tersebut sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) dapat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Lisnawati *et al.*, 2020).

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dapat disebut juga belimbing asam merupakan sejenis pohon yang diperkirakan berasal dari kepulauan Maluku (Hasim *et al.*, 2019). Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) merupakan tanaman jenis buah dan obat tradisional. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, dan tanin (Hasim *et al.*, 2019). Daun sirih (*Piper betle*) telah lama diketahui dan digunakan dalam pengobatan sakit gigi, batuk, penyegar, dan lain sebagainya. Bagian-bagian dalam tanaman sirih seperti akar, biji, dan daun berpotensi untuk pengobatan terapi. Bagian yang sering digunakan yaitu daunnya. Didalam daun sirih (*Piper betle*) terdapat sejumlah zat kimia atau bahan alami yang memiliki aktivitas sebagai senyawa antimikroba (Rait *et al.*, 2021). Daun sirih (*Piper betle*) mengandung senyawa minyak atsiri, alkaloid, flavonoid tannin-polifenol, steroid, dan senyawa neolignane (Tandi *et al.*, 2020).

Hasil dari penelitian Juniasti *et al.* (2015), menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Bustanussalam *et al.* (2015) juga menunjukkan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun sirih. Belum pernah dilakukan penelitian dengan kombinasi buah belimbing wuluh dan daun sirih. Tujuan dari penelitian terkait kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih untuk mengetahui aktivitas antibakteri menjadi lebih kuat atau sebaliknya dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal (Rinawati *et al.*, 2022).

Bakteri yang sering ditemui dalam lingkungan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri pathogen yang sering terdapat pada tangan. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan mastitis subklinis maupun mastitis kronis, hal tersebut menyebabkan kejadian mastitis sering dihubungkan dengan infeksi *Staphylococcus aureus* (Ulfah, 2020). *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negative primer pathogen yang merupakan penyebab kedua penyakit infeksi setelah *Streptococcus*. *Escherichia coli* dapat menyebabkan meningitis dan menyebabkan kematian pada 20-40% pada bayi yang terinfeksi. Selain meningitis, diare juga merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* (Rait *et al.*, 2021).

Antibiotika merupakan obat untuk pencegahan dan mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Lubis *et al.*, 2019). Antibakteri dapat dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Magani *et al.*, 2020). Pemberian antibiotik merupakan pengobatan utama dalam terapi penyakit infeksi bakteri, manfaat dari penggunaan antibiotik tidak perlu diragukan lagi. Salah satu antibiotik yang dapat digunakan yaitu kloramphenicol karena termasuk dalam golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas dan juga berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap hampir semua bakteri gram positif dan sejumlah bakteri gram negatif (Charisma, 2020). Penggunaan antibiotik dalam pengobatan untuk manusia dimulai sejak tahun 1940

sehingga pengobatan antibiotik semakin luas dan menyebabkan meluasnya potensi resistensi bakteri (Humaida, 2014). Terjadinya resistensi obat-obatan antibiotik ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor pemicu seperti penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik ini menyebabkan kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain menjadi meningkat, termasuk antibiotik dari tumbuh-tumbuhan berkhasiat obat (Safitri, 2020).

Pada penelitian yang sudah ada menggunakan metode ekstraksi maserasi, soxhlet, dan hidrodistilasi. Tapi pada metode tersebut memerlukan pelarut yang sangat mahal sehingga menghasilkan antibakteri yang efektif. Kembali ke tujuan penelitian ini yaitu selain untuk mengetahui efektivitas antibakteri tetapi juga untuk mempermudah implementasi di masyarakat. Teknik ekstraksi yang mudah dilakukan yaitu hidroekstraksi menggunakan air panas dengan cara perebusan dan kukusan. Metode hidroekstraksi merupakan cara yang sangat sederhana dan ekonomis sehingga dapat diaplikasikan dengan mudah oleh masyarakat (Rahayu *et al.*, 2016). Metode rebus yaitu menggunakan air dan metode kukus menggunakan uap merupakan metode yang umum dan mudah dilakukan masyarakat. Metode tersebut yang selanjutnya digunakan untuk mengetahui senyawa yang terdapat di bahan alam yang digunakan pada penelitian ini menggunakan suhu 40°, 50°, dan 60°C di rebus dan suhu 90°C di kukus (Budyghifari *et al.*, 2022).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu pemanasan dan variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) pada perbandingan 1 : 2 dengan teknik hidroekstraksi melalui perebusan dan kukusan, sehingga diperoleh hasil ekstraksi yang efektif dan ekonomis sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Berapakah suhu pemanasan optimum kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?
- 1.2.2 Berapakah konsentrasi optimum kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Untuk mengetahui suhu pemanasan optimum kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- 1.3.2 Untuk mengetahui konsentrasi optimum kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

## 1.4 Batasan Masalah

- 1.4.1 Sampel yang digunakan adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang diperoleh di Kawasan Bendiljati Wetan, Tulungagung.
- 1.4.2 Metode ekstraksi yang digunakan yaitu hidroekstraksi yang menggunakan metode rebus pada suhu 40°, 50°, dan 60° C , lalu metode kukus pada suhu 90° C.
- 1.4.3 Uji antibakteri pada tanaman buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) dengan metode difusi cakram untuk menghitung daya hambatnya.

## 1.5 Relevansi Penelitian

Penelitian ini memiliki relevansi dengan penelitian sebelumnya yaitu :

- 1.5.1 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.

1.5.2 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.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

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

##### 2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Roidae
Ordo	: Geraiales
Famili	: Oxalidaceae
Genus	: Averrhoa
Spesies	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L (Yanti & Vera, 2019)



**Gambar 2. 1** Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

(Yanti & Vera, 2019)

### 2.1.2 Morfologi

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) merupakan tanaman yang diperkirakan berasal dari daerah Amerika tropic. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) tumbuh baik di negara asalnya sedangkan di Indonesia banyak yang mengadakan perkembangbiakan di perkarangan dan kadang-kadang tumbuh secara liar di ladang atau tepi hutan (Hasim *et al.*, 2019). Tanaman ini di kenal dengan nama daerah libi, limbi, blimbing buloh, malibi, dan tukurela. Nama asingnya curcuma tree, bilimbi, dan malibi (Yanti & Vera, 2019).

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) merupakan tanaman dengan tinggi mencapai 10 m memiliki batang yang tidak begitu besar dan bergaris tengah sekitar 30 cm. Daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal membundar, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau, permukaan bawah warnanya lebih muda (Yanti & Vera, 2019).

### 2.1.3 Manfaat atau Khasiat

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dapat dimanfaatkan salah satunya sebagai obat batuk dan sariawan. Daun belimbing wuluh selain digunakan sebagai penyedap rasa juga dapat digunakan sebagai obat batuk, obat kompres pada sakit gondokan dan obat rematik, antidiare, sedangkan batang belimbing wuluh dapat digunakan sebagai obat sakit perut, Buah belimbing wuluh selain digunakan sebagai bumbu masak juga dapat digunakan sebagai obat menurunkan tekanan darah tinggi, gusi berdarah, jerawat dan batuk Buah belimbing wuluh mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit (Nur & Fajar, 2019).

### 2.1.4 Kandungan Kimia

Berdasarkan hasil analisis uji fitokimia yang telah dilakukan oleh Amran (2019) menunjukkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.

**Tabel 2. 1** Hasil Analisis Uji Fitokimia Ekstrak Buah Belimbing Wuluh  
(Nur & Fajar, 2019)

Golongan Senyawa	Ekstrak Belimbing wuluh
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Tanin	+
Saponin	+
Kuinon	-
Triterpenoid	+

Keterangan :

+ : Mengandung senyawa

- : Tidak mengandung senyawa

## 2.2 Uraian Tanaman Daun 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

Ordo : Piperales

Famili : Piperaceae

Genus : Piper

Spesies : *Piper betle* L. (Widiyastuti *et al.*, 2016)



**Gambar 2. 2** Daun Sirih (*Piper betle*)

(Widiyastuti *et al.*, 2016)

### 2.2.2 Morfologi

Daun sirih (*Piper betle L.*) merupakan salah satu marga dalam famili Piperaceae yang meliputi lebih dari seribu jenis tumbuhan yang tersebar di daerah tropis dan sub tropis. Sirih (*Piper betle L.*) adalah salah satu spesies dalam genus Piper yang sangat dikenal masyarakat, karena tidak hanya dimanfaatkan sebagai herbal namun juga memiliki nilai penting dalam kultur atau budaya masyarakat (Rait *et al.*, 2021).

Tanaman ini berupa semak berkayu di bagian pangkal, merambat atau memanjat, panjang tanaman dapat mencapai 15 m. Batang berbentuk silindris, berbuku-buku nyata, beralur, batang muda berwarna hijau, tua berwarna coklat muda. Daun tunggal, letak berseling, helaian daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal daun berbentuk jantung atau membulat, panjang 5–18 cm, lebar daun 2,5–10,75 cm. Perbungaan berupa bunga majemuk untai, daun pelindung kurang lebih 1 mm, berkelamin jantan, betina atau banci. Buah batu, bulat, dan berwarna hijau keabu-abuan,

tebal 1–1,5 cm, biji agak membulat, panjang 3,5–5 mm (Widiyastuti *et al.*, 2016).

### 2.2.3 Manfaat atau Khasiat

Daun sirih (*Piper betle L.*) memiliki beberapa manfaat yang banyak sejak jaman nenek moyang. Secara tradisional daun sirih dapat digunakan untuk antiradang, antiseptik, antibakteri, penghenti darah, pereda batuk, peluruh kentut, perangsang keluarnya air liur, pencegah kecacingan, pengkilang gatal, dan sebagai penenang (Widiyastuti *et al.*, 2016).

### 2.2.4 Kandungan Kimia

Pada tanaman daun sirih memiliki kandungan senyawa flavonoid, polifenol, tanin, dan minyak atsiri. Daun sirih mengandung minyak atsiri sebesar 1 – 4,2%, dan senyawa fenol beserta turunannya seperti dari hidroksi kavikol, kavibetol, estargiol, eugenol, metileugenol, karvakrol, terpen, seskuioterpen, fenilpropan, dan tanin. Kavikol yang memiliki aktivitas sebagai bakterisida lima kali lebih kuat dibandingkan dengan fenol (Triyani *et al.*, 2021). Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba. Senyawa tersebut dapat merusak membran sitoplasma dan membunuh sel. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja mendenaturasi protein sel bakteri. Karena semakin tingginya konsentrasi ekstrak daun sirih yang digunakan maka pengaruh dari zat antiseptiknya semakin kuat untuk menghambat dan membunuh bakteri (Efendi *et al.*, 2020).

## 2.3 Bakteri

Bakteri merupakan kelompok dari organisme mikroskopis yang pada sumbu membrane ini memiliki dinding sel akan tetapi tidak berklorofil. Meskipun memiliki ukuran yang kecil akan tetapi bakteri berperan penting dalam kehidupan sehari-hari salah satunya digunakan dalam industry pangan. Akan tetapi Adapun bakteri yang merugikan diantaranya yaitu

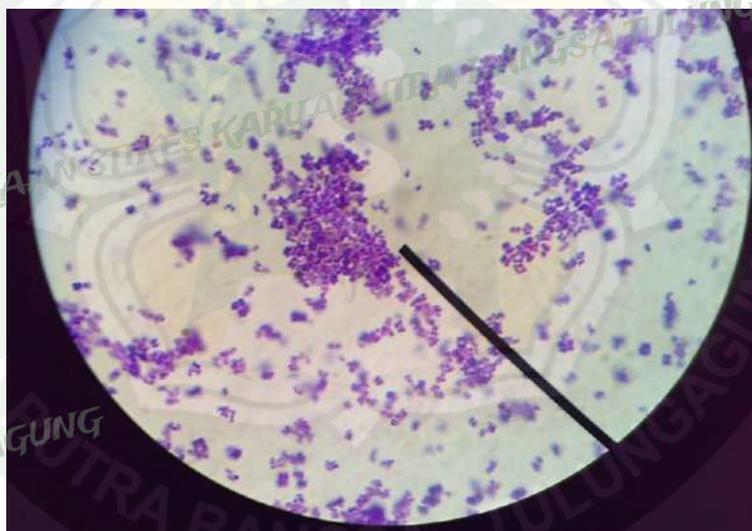
bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia (Febriza *et al.*, 2021).

### 2.3.1 *Staphylococcus Aureus*

#### 2.3.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu :

- Domain : Bacteria
- Kerajaan : Eubacteria
- Filum : Firmicutes
- Kelas : Bacilli
- Ordo : Bacillales
- Famili : Staphylococcaceae
- Genus : Staphylococcus
- Spesies : *Staphylococcus aureus* (Sari *et al.*, 2021)



**Gambar 2. 3** Bakteri *Staphylococcus aureus* (Rahayu *et al.*, 2022)

#### 2.3.1.2 Morfologi

*Staphylococcus aureus* memiliki bentuk seperti bola dengan diameter 0,7–1,2 µm yang tersusun dalam kelompok. Bakteri ini tidak membentuk spora dan tidak bergerak. pH optimum untuk pertumbuhan bakteri ini yaitu 7,4. Koloni bakteri ini memiliki ukuran besar dengan diameter 6–8 mm dan memiliki warna bening. Bentuk koloni bakteri ini yaitu bulat, cembung,

dan mengkilap. Strain dari koloni bakteri memiliki pigmen berwarna jingga (Soedarto, 2015).

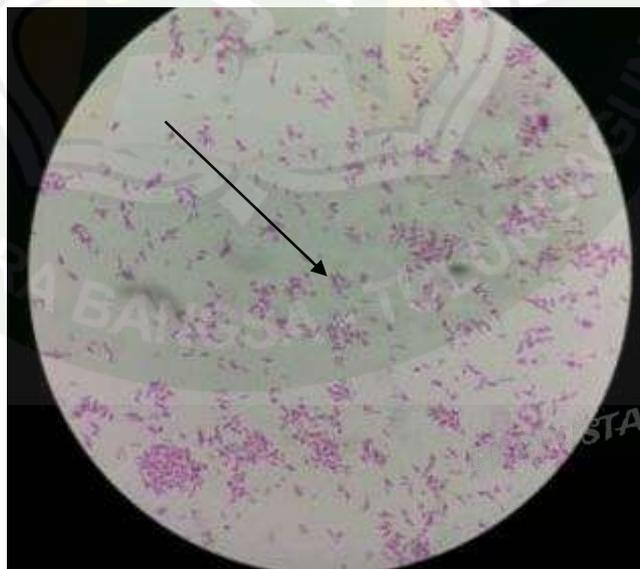
*Staphylococcus aureus* yaitu bakteri Gram positif fakultatif anaerob yang tumbuh pada suhu optimal 34°C, yang akan menghasilkan pigmen kuning keemasan. Mikroba ini biasa ditemukan di hidung 30% – 50% orang dewasa yang sehat, pada tinja 20%, dan dikulit 5% - 10% (Sari *et al.*, 2021).

### 2.3.2 *Escherichia Coli*

#### 2.3.2.1 Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* yaitu :

- Kingdom : Bacteria
- Filum : Proteobacteria
- Kelas : Gamma Proteobacteria
- Ordo : Enterobacteriales
- Family : Enterobacteriaceae
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia coli* (Sutiknowati, 2016)



Gambar 2. 4 Bakteri *Escherichia coli* (Sutiknowati, 2016)

### 2.3.2.2 Morfologi

*Escherichia coli* memiliki panjang sekitar 2  $\mu\text{m}$ , diameter 0,7  $\mu\text{m}$ , lebar 0,4-0,7  $\mu\text{m}$ , dan bersifat anaerob fakultatif. Dan membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Hidayati *et al.*, 2016). Tiga struktur antigen permukaan utama yang digunakan untuk membedakan serotipe kelompok *Escherichia coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagela. Dinding sel *Escherichia coli* merupakan lipopolisakarida yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta tergolong antigen O. Kapsul *Escherichia coli* merupakan polisakarida yang dapat melindungi membran luar dari sistem fagositosis dan komplemen yang tergolong antigen K. Flagela *Escherichia coli* terdiri dari protein yang bersifat antigenik dan dikenal sebagai antigen H. Faktor virulensi *Escherichia coli* juga disebabkan oleh enterotoksin, hemolisin, colisin, siderophores, dan molekul pengikat besi (*aerobactin dan entrobactin*) (Quinn *et al.*, 2012).

Pada umumnya, bakteri ini dapat dijumpai dalam usus besar manusia. Kebanyak bakteri ini tidak berbahaya, akan tetapi ada beberapa yang dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius pada manusia contohnya yaitu diare berdarah yang dikarenakan eksotoksin yang dihasilkan bernama verotoksin. Cara kerja dari toksin ini yaitu dengan menghilangkan satu basa adenin dari unit 28S rRNA yang menyebabkan berhentinya sintesis protein. Sumber dari bakteri ini yaitu daging yang belum masak (Sutiknowati, 2016).

## 2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan berdasarkan sifat suatu senyawa dalam suatu pelarut melalui perpindahan zat dari suatu fasa ke fasa yang lainnya. Hal tersebut terjadi karena adanya gaya tarik antar molekul pelarut dengan molekul zat terlarut. Senyawa non polar larut dalam senyawa non polar, senyawa polar larut dalam senyawa polar, dan senyawa organik larut dalam senyawa organik. Tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat di dalam simplisia (Amperawati *et al.*, 2019).

### 2.4.1 Hidroekstraksi

Hidroekstraksi merupakan salah satu metode ekstraksi yang memiliki cara sederhana dan ekonomis sehingga mudah dilakukan oleh masyarakat. Hidroekstraksi adalah proses ekstraksi padat-cair yang menggunakan pelarut air. Hidroekstraksi adalah salah satu metode alternatif dengan cara kukus dan rebus (Rahayu *et al.*, 2016). Teknik hidroekstraksi yaitu proses isolasi menggunakan air sebagai katalis dan temperature sebagai tekanan. Sehingga proses hidroekstraksi merupakan proses ekstraksi yang melibatkan air dan tekanan suhu (*high temperature short time/HTST*) dengan aquadest sebagai media pindah panas (Kolanus *et al.*, 2019).

## 2.5 Pelarut

Pelarut merupakan benda cair atau gas yang dapat melarutkan benda padar, gas, atau cair dan dapat menghasilkan larutan. Pelarut yang umum digunakan yaitu air. Faktor yang berpengaruh dalam keberhasilan proses ekstraksi yaitu mutu dan pelarut yang dipakai. Terdapat dua pertimbangan untuk memilih pelarut yaitu pelarut tidak berbahaya atau tidak beracun dan pelarut harus memiliki daya larut yang tinggi (Kuntaarsa *et al.*, 2021).

### 2.5.1 Aquades

Aquades adalah pelarut yang memiliki polaritas tertinggi, hal tersebut menyebabkan aquades dapat memberikan rendemen paling rendah dibandingkan ekstrak yang menggunakan pelarut lain. Sehingga menyebabkan karbohidrat ikut terekstrak yang dapat menyebabkan total fenol per berat sampel menjadi rendah (Astriyani *et al.*, 2017).

Air dapat melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang mempunyai aktivitas antioksidan (Tiwari *et al.*, 2011). Air digunakan sebagai pelarut memiliki harga murah, mudah diperoleh, tidak mudah menguap, dan tidak beracun. Kerugian pelarut air yaitu tidak dapat melarutkan semua zat berkhasiat yang dikehendaki, ekstrak dapat ditumbuhi

kapang sehingga cepat rusak dan waktu pengeringan ekstrak memerlukan jangka waktu lama. Air dapat melarutkan garam alkaloid, glikosida, tanin, gom, pati, protein, dan asam organik (Charisma, 2020).

## 2.6 Skrining Fitokimia

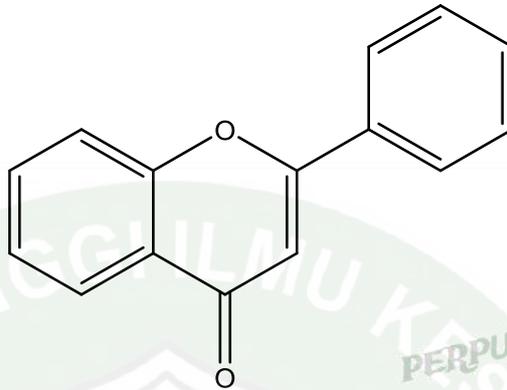
Skrining fitokimia atau disebut juga penapisan fitokimia merupakan uji pendahuluan dalam menentukan golongan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tumbuhan. Skrining fitokimia tumbuhan dijadikan informasi awal dalam mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat didalam suatu tumbuhan. Dalam percobaan ini, skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi-pereaksi tertentu sehingga dapat diketahui golongan senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan tersebut.

Uji skrining fitokimia bersifat kimiawi, tetapi untuk mengetahui adanya minyak atsiri dalam suatu tumbuhan dapat juga diperiksa secara mikroskopik yaitu dengan melihat apakah terdapat kelenjar-kelenjar minyak atsiri atau rambut-rambut kelenjar yang mengandung minyak atsiri, misalnya terdapat pada famili Labiate atau Asteraceae. Sebenarnya, dengan mengetahui sistematika suatu tumbuhan sudah dapat dibuat dugaan mengenai senyawa apa yang terkandung didalam suatu tumbuhan karena banyak famili tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa yang khas, misalnya Solanaceae mengandung alkaloida tropan, famili Rubiaceae mengandung alkaloida golongan purin dan sebagainya.

### 2.6.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman, yang dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji. Secara kimia, flavanoid mengandung cincin aromatik tersusun dari 15 atom karbon dengan inti dasar tersusun dalam konjugasi C6-C3-C6 (dua inti aromatik terhubung dengan 3 atom karbon) (Sriningsih *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid adalah senyawa yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi

sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen. Dalam proses ekstraksi, senyawa aktif dalam suatu tanaman akan mudah terlarut atau terikat oleh pelarut sesuai dengan sifat kepolarannya (Agustina *et al.*, 2018).

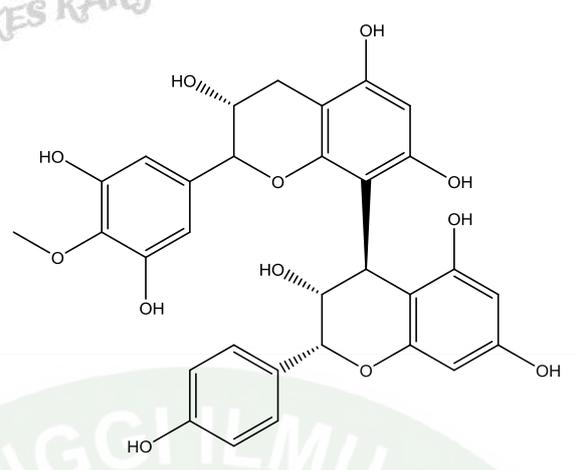


**Gambar 2. 5** Stuktur Kimia Flavonoid (Septiana & Asnani, 2012)

Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Selain berperan dalam antibakteri flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Ngajow *et al.*, 2013).

### 2.6.2 Tanin

Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus yang bersangkutan, seperti karboksil untuk membentuk kompleks kuat yang efektif dengan protein dan beberapa makromolekul (Marfuah *et al.*, 2017). Senyawa tanin adalah senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, Ketika ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 10% akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin (Wahid & Safwan, 2020).

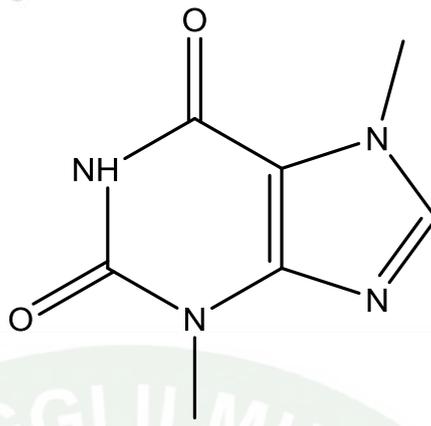


**Gambar 2. 6** Struktur Kimia Tanin (Septiana & Asnani, 2012)

Senyawa tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara memprepitasi protein. Efek antibakteri tanin melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Noventi & Carolia, 2016).

**2.6.3 Alkaloid**

Alkaloid salah satu senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang banyak ditemukan dalam tumbuhan yang ada di alam. Hampir semua jenis tumbuhan mengandung alkaloid. Semua alkaloid terdapat atom nitrogen yang mempunyai sifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid mempunyai titik didih berkisar 87°-238°C (Lisiana, 2016). Alkaloid memiliki kegiatan fisiologi yang menonjol dan sering digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa yang mempunyai satu atau lebih atom nitrogen biasanya dalam gabungan dan sebagian dari sistem siklik (Nilda, 2012).

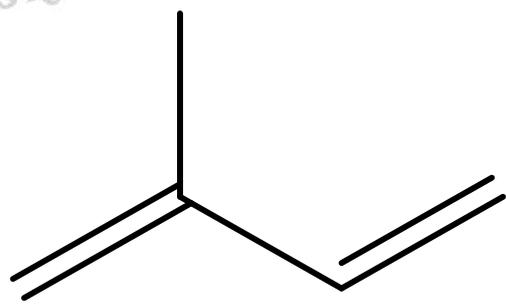


**Gambar 2.7** Struktur Kimia Alkaloid (Septiana & Asnani, 2012)

Senyawa alkaloid merupakan senyawa polar karena golongan senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri merupakan senyawa-senyawa polar, yang akan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar (Sa'adah *et al.*, 2015). Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri (Dwicahyani *et al.*, 2018). Hal ini diperkuat oleh Retnowati *et al.* (2011), mekanisme penghambatan alkaloid yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel.

**2.6.4 Terpenoid**

Terpen merupakan senyawa hidrokarbon yang terdapat pada semua tanaman, hewan, serangga dan hewan laut (kandungannya sedikit). Pada tanaman, sebagian besar terpen terdapat dalam getah dan vokuolanya. Terpen juga merupakan kerangka penyusun mahluk hidup, seperti steroid dan skualen yang tergolong dalam triterpen (Arlofa, 2015).

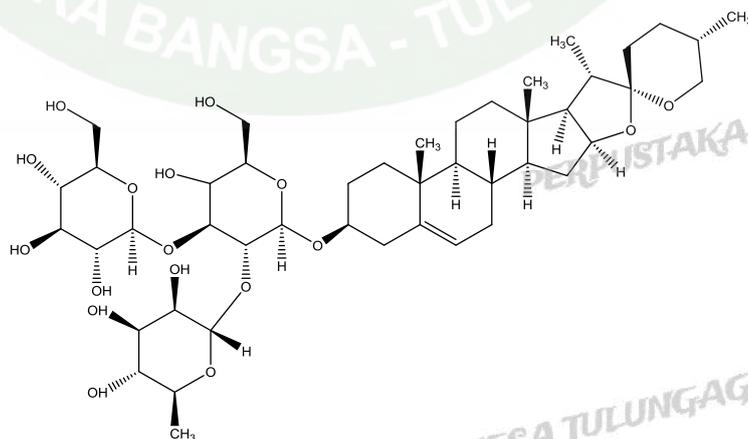


Gambar 2. 8 Struktur Kimia Terpenoid (Septiana & Asnani, 2012)

Senyawa terpenoid dapat melawan bakteri tetapi mekanisme masih belum benar-benar diketahui. Aktifitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membrane oleh komponen-komponen lipofilik (Ngajow *et al.*, 2013). Terpenoid memiliki bagian polar dan non polar, tetapi bagian non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan bagian polar sehingga terpenoid cenderung lebih mudah larut dalam pelarut non polar (Pangestuti *et al.*, 2017).

### 2.6.5 Saponin

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder dari tanaman (Charisma, 2020). Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon (sapogenin) yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid (Charisma, 2020). Saponin memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya. Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Damayanti, 2021).



Gambar 2. 9 Struktur Kimia Saponin (Septiana & Asnani, 2012)

Senyawa saponin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Senyawa ini berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu sehingga mengurangi kestabilan itu. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida. Komponen ikatan glikosida yang terdapat didalam saponin menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar (Ngajow *et al.*, 2013).

## 2.7 Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu yang memiliki kemampuan dalam konsentrasi rendah untuk menghambat atau membunuh, secara selektif mikroorganisme lain. Antibiotika berasal dari fungi dan bakteri yang menghasilkan suatu zat kimia yang memiliki khasiat menghambat atau mematikan pertumbuhan kuman, dengan toksisitasnya bagi manusia relative kecil (Charisma, 2020).

### 2.7.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Beberapa mekanisme yang dimiliki oleh senyawa antimikroba antara lain:

#### 2.7.1.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel

Senyawa antimikroba dapat menghambat sintesis atau menghambat aktivitas enzim seperti enzim transpeptidase yang dapat menimbulkan kerusakan dinding sel yang berakibat sel mengalami lisis. Jenis mikroba dengan mekanisme tersebut, antara lain Basitrasin, Sefalosporin, Sikloserin, Penisilin, Vankomisin (Charisma, 2020).

#### 2.7.1.2 Menghambat Sintesis Protein

Kehidupan suatu sel tergantung pada kondisi terjaganya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Suatu kondisi

atau substansi yang mengubah keadaan ini seperti proses denaturasi protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tersebut dan tidak dapat diperbaiki kembali. Tingginya Suhu dan konsentrasi beberapa zat kimia dapat menyebabkan terjadinya koagulasi (denaturasi) yang bersifat ireversibel (tidak dapat kembali seperti awal) dari komponen-komponen seluler penting. Contoh jenis antimikroba dengan aktivitas tersebut adalah aminoglikosida, kloramfenikol, tetrasiklin eritromisin, dan linkomisin (Charisma, 2020).

#### **2.7.1.3 Menghambat Fungsi DNA**

DNA dan RNA memegang peranan penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang akan terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Jenis mikroba dengan aktivitas tersebut, antara lain quinolon, pyrimethamine, sulfonamide, trimethoprim dan trimetrexate (Charisma, 2020)

#### **2.7.1.4 Menghambat Metabolisme Sel Mikroba**

Enzim yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Antimikroba bekerja dengan menghambat metabolit spesifik dari suatu mikroba, contohnya sulfonamida. Pertumbuhan sel dihambat oleh senyawa sulfonamida melalui penghambatan sintesis asam folat, para amino benzoic acid (PABA), dan enzim secara kompetitif langsung mempersatukan PABA dan sebagian pteridin menjadi asam dihidraptroa (Damayanti, 2021).

### **2.8 Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas adalah metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan difusi. Metode difusi menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear-zone*) yang merupakan petunjuk

adanya respon pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam ekstrak (Anjarsari & Lestari, 2022).

### 2.8.1 Metode Difusi

Metode ini menggunakan cakram uji atau *disc* untuk menyerap konsentrasi ekstrak tumbuhan yang diinginkan (Damayanti, 2021). Cakram atau *disc* tersebut kemudian diletakkan pada permukaan media agar padat yang sesuai, setelah media diinokulasi dengan mikroorganisme uji (Charisma, 2020). Cakram atau *disc* kemudian diinkubasi selama 1 X 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 2 X 24 jam pada suhu 25°C untuk fungi, setelah diinkubasi diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur (Charisma, 2020).

**Tabel 2. 2** Kategori Diameter Zona Hambat (Surjowardoyo *et al.*, 2016)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
$\leq 5$ mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
$\geq 21$ mm	Sangat kuat

### 2.9 Obat Antibakteri Kloramphenicol

Kloramphenicol menghambat ikatan asam amino baru pada rantai peptida yang memanjang, karena kloramfenikol menghambat enzim peptidyl transferase. Kloramphenicol bersifat bakteriostatik dan bakteri bisa tumbuh lagi jika pengaruh obat dihilangkan (Charisma, 2020). Kloramphenicol merupakan suatu golongan antibiotika dengan spektrum kerja yang luas. Antibiotik ini berkhasiat sebagai bakteriostatik terhadap hampir semua bakteri gram positif dan sejumlah bakteri gram negatif. Kloramphenicol merupakan antimikroba dengan aktivitas mengubah proses denaturasi protein

dan asam-asam nukleat sehingga dapat merusak sel tersebut dan tidak dapat diperbaiki kembali (Charisma, 2020).

Berdasarkan penelitian Syafriana *et al* (2020), antibiotik kloramphenicol termasuk antibiotik yang sering digunakan oleh masyarakat dan termasuk kedalam golongan antibiotik berspektrum luas. Antibiotik kloramphenicol tergolong sensitif terhadap isolat uji sebesar 75% dan menunjukkan masih termasuk efektif untuk melawan bakteri *Escherichia coli*. Kloramphenicol bekerja dengan mengganggu sintesis protein dengan cara berikatan pada sub unit ribosom 50S (Syafriana *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Samputri *et al* (2020), Mekanisme kerja kloramphenicol sama dengan mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat sintesis protein pada dinding sel yang akan menyebabkan lisis pada sel sehingga sel akan mati. Menurut Rijayanti, (2014) kloramphenicol digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki mekanisme yang sama dengan kandungan flavonoid sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri. Karakteristik kloramphenicol 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; laru tan praktis netral terhadap lakmus P; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam. Kelarutan : Sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.  
Persyaratan : Pada sediaan kapsul kloramfenikol mengandung kloramfenikol, tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket

## 2.10 Hipotesis

2.10.1 Terdapat suhu pemanasan optimum kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada suhu 50°C (Tilarso *et al.*, 2022).

2.10.2 Terdapat konsentrasi optimum kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 60% (Tilarso *et al.*, 2022).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu daun sirih, belimbing wuluh, bakteri uji adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Media uji adalah *Nutrient agar* (NA) (Merck), *Nutrient broth* (NB) (Merck). Bahan tambahannya aquadest (Brataco), pereaksi mayer (Merck), pereaksi dragendroff (Merck), asam klorida pekat (HCl P) (Merck), Besi (III) Klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) (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

Bahan yang digunakan yaitu pisau, nampan, kain penyari, kompor, panci, beaker glass (Pyrex), termometer, cawan petri, *cotton* steril, gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung, timbangan analitik (Kenko), lampu spiritus, plat tetes, Erlenmeyer (Pyrex), *magnetic stirrer with heater* 79-1, incubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), lemari pendingin (Sharp).

#### 3.3 Populasi Penelitian

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

### 3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti dalam bentuk apapun sebagai salah satu hal yang digunakan untuk dipelajari sehingga dapat memperoleh suatu informasi dalam hal-hal tersebut untuk mengambil kesimpulannya (Sugiyono, 2016). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variabel bebas dan variabel terikat.

#### 3.5.1 Variabel Bebas

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

#### 3.5.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dibuat konstan atau dikendalikan sehingga hubungan variabel terikat terhadap variabel bebas tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Widiyaningsih, 2018). Penelitian ini menggunakan variabel kontrol metode hidroekstraksi dan menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*.

#### 3.5.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau akibat adanya variabel bebas (Sugiyono, 2016). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu serta daya hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia 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 Pembuatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Hijau

Pada pembuatan ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih yaitu dengan mendapatkan sampel di Desa Bendiljati Wetan, Kecamatan Sumbergempol. Selanjutnya melakukan proses determinasi di Laboratorium Herba Materia Medika Kota Batu, Malang. Setelah itu untuk melakukan pembuatan ekstrak yang pertama yaitu mengumpulkan buah belimbing wuluh dan daun sirih, lalu dilakukan penyortiran. Ciri buah belimbing wuluh yaitu buah berwarna kuning segar dan tidak ada kerusakan pada buah. Sedangkan ciri daun sirih dipilih daun yang berwarna hijau segar. Kemudian dilakukan sortasi basah menggunakan air mengalir, lalu ditiriskan hingga kering. Bahan dipotong  $\pm 0,5$  cm. kemudian bahan ditimbang seberat 100 gram.

Pada metode hidroekstraksi menggunakan air panas dengan cara di rebus dengan suhu  $40^{\circ}\text{C}$ ,  $50^{\circ}\text{C}$ , dan  $60^{\circ}\text{C}$ , lalu pada suhu  $90^{\circ}\text{C}$  dengan cara di kukus. Perlakuan terhadap metode rebus yaitu disiapkan air sebanyak 100ml lalu dipanaskan pada *waterbath* dengan pengaturan suhu  $40^{\circ}\text{C}$ ,  $50^{\circ}\text{C}$ , dan  $60^{\circ}\text{C}$  serta ditambahkan sampel yang sudah dipotong sebanyak 100 gram, tunggu selama  $\pm 30$  menit kemudian disaring, pada penyaringan pertama menggunakan plastik kasa dilanjutkan dengan penyaringan kedua menggunakan kertas saring. Sedangkan pada metode kukus dilakukan dengan menyiapkan dandang yang sudah disiapkan dan ditunggu sampai suhu mencapai  $90^{\circ}\text{C}$  lalu dimasukkan masing-masing bahan sebanyak 100 gram tunggu selama  $\pm 30$  menit kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring (Farhamzah *et al.*, 2019).

### 3.7 Skrining Fitokimia

#### 3.7.1 Flavonoid

Disiapkan sebanyak 1 gram ekstrak sampel kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan HCl pekat setelah itu dipanaskan dengan waktu 15 menit di atas penangas air. Apabila terbentuk warna merah atau kuning maka positif mengandung flavonoid (flavon, kalkon, dan auron) (Mutmainnah, 2017).

#### 3.7.2 Tanin

Disiapkan sebanyak 2 gram ekstrak sampel ditambahkan etanol hingga sampel terendam. Diambil sebanyak 1 mL larutan sampel lalu dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1%. Apabila terbentuk warna hitam kebiruan atau hijau maka positif mengandung tanin (Mutmainnah, 2017).

#### 3.7.3 Terpenoid

Disiapkan 2 gram ekstrak sampel lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL etil asetat dan dikocok. Lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plate tetes dan dibiarkan sampai kering. Setelah kering, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila terbentuk warna merah atau kuning maka positif mengandung terpenoid, sedangkan apabila terbentuk warna hijau maka positif mengandung steroid (Mutmainnah, 2017).

#### 3.7.4 Alkaloid

Sebanyak 2 gram ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditetesi dengan 5 mL HCl 2N lalu dipanaskan dan didinginkan, kemudian ditambahkan perekasi mayer dan dragendroff. Hasil positif mengandung alkaloid apabila terbentuk endapan coklat kemerahan atau jingga (Mutmainnah, 2017).

### **3.7.5 Saponin**

Sebanyak 1 gram ekstrak sampel dari hasil ekstraksi ditambahkan 10 mL air panas, lalu didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Apabila timbul buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit maka positif mengandung saponin dan pada HCl 2N, buih tidak hilang (Mutmainnah, 2017).

## **3.8 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Hijau**

### **3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi merupakan proses menghilangkan semua jenis organisme hidup seperti protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma atau virus yang terdapat pada suatu benda. Pada penelitian ini sterilisasi bahan dan alat menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit. Wadah yang digunakan saat sterilisasi harus sesuai dengan larutan contohnya seperti Erlenmeyer dengan mulut ditutup kapas dan dibungkus 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 Hijau**

Pada penelitian ini membuat larutan uji kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau dengan perbandingan 1:2 (10 mL : 20 mL) lalu dilakukan pengenceran menggunakan aquadest dengan volume masing-masing 10 mL. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 10%, 50%, dan 100%.

Pengenceran pada konsentrasi yang dilakukan sebagai berikut. Konsentrasi 10% dibuat dengan 1 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 9 mL, konsentrasi 50% dibuat dengan 5 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 5

mL, dan konsentrasi 100% dibuat dengan 10 mL ekstrak kombinasi tanpa penambahan aquadest.

### 3.8.2.2 Kontrol Positif

Pada penelitian ini kontrol positif menggunakan kloramfenikol. Untuk pengenceran yang dilakukan dengan menggunakan 0,01 gram dilarutkan dengan aquadest 1 mL lalu dikocok sampai homogen (Kumayas, 2015).

### 3.8.2.3 Kontrol Negatif

Pada penelitian ini kontrol negatif menggunakan aquadest. Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, sehingga dapat diketahui bahwa yang memiliki aktivitas antibakteri yaitu zat uji bukan pelarut (Nuria *et al.*, 2009).

### 3.8.3 Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Menimbang seberat 1 gram *nutrient agar* kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 50 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 autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Media steril lalu dituang ke dalam cawan petri steril secara aseptik (Misna & Diana, 2016)

### 3.8.4 Pembuatan Media Nutrien 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 autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C. Media steril lalu dituang ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan plastik wrap (Misna & Diana, 2016).

### 3.8.5 Inokulasi Bakteri

Inokulasi bakteri merupakan proses menumbuhkan bakteri dalam tabung reaksi berisi agar yang telah dibuat (Misna & Diana, 2016). Inokulasi dilakukan secara aseptik. Diambil 1 ose bakteri ditambahkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml media *nutrient broth* (NB). Pada setiap penutup tabung dilapisi dengan plastik wrap untuk mencegah kontaminasi. Tabung yang telah ditambahkan bakteri diinkubasi dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Wihansah *et al.*, 2018).

### 3.8.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian pada penelitian ini dengan cara kapas lidi steril masukkan 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%, 50%, 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, 2022).

### 3.8.7 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 sebagai berikut (Wenda et al., 2017) :

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2} \quad (\text{Persamaan 3. 1})$$

Keterangan :

DV : Diameter vertical

DH : Diameter horizontal

DC : Diameter cakram

### 3.9 Analisis Data

Analisis dan pengolahan data menggunakan Uji *Analysis of Variance* (Anova) dengan program SPSS versi 24. Proses pertama yang dilakukan data diuji dengan pengujian normalitas kemudian homogenitas sebagai prasyarat analisis data sebelum menggunakan uji Anova. 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<sub>0</sub> : data berdistribusi normal

H<sub>1</sub> : data berdistribusi tidak normal

Pengambilan Keputusan

Jika p > 0,05; maka H<sub>0</sub> diterima

Jika p ≤ 0,05; maka H<sub>1</sub> 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 itu 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 suhu dan variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

$H_1$  : ada pengaruh suhu dan 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* digunakan untuk melihat ada tidaknya perbedaan rata-rata secara detail. Uji *post hoc* terdapat di dalam uji *Anova*. Uji ini merupakan uji lanjutan dari uji *Anova*. Uji *post hoc* yang dilakukan pada penelitian ini adalah LSD (*Least Significance Different*). Uji LSD (*Least Significance Different*) digunakan sebagai acuan dalam menentukan rata-rata dua perlakuan berbeda secara signifikan.

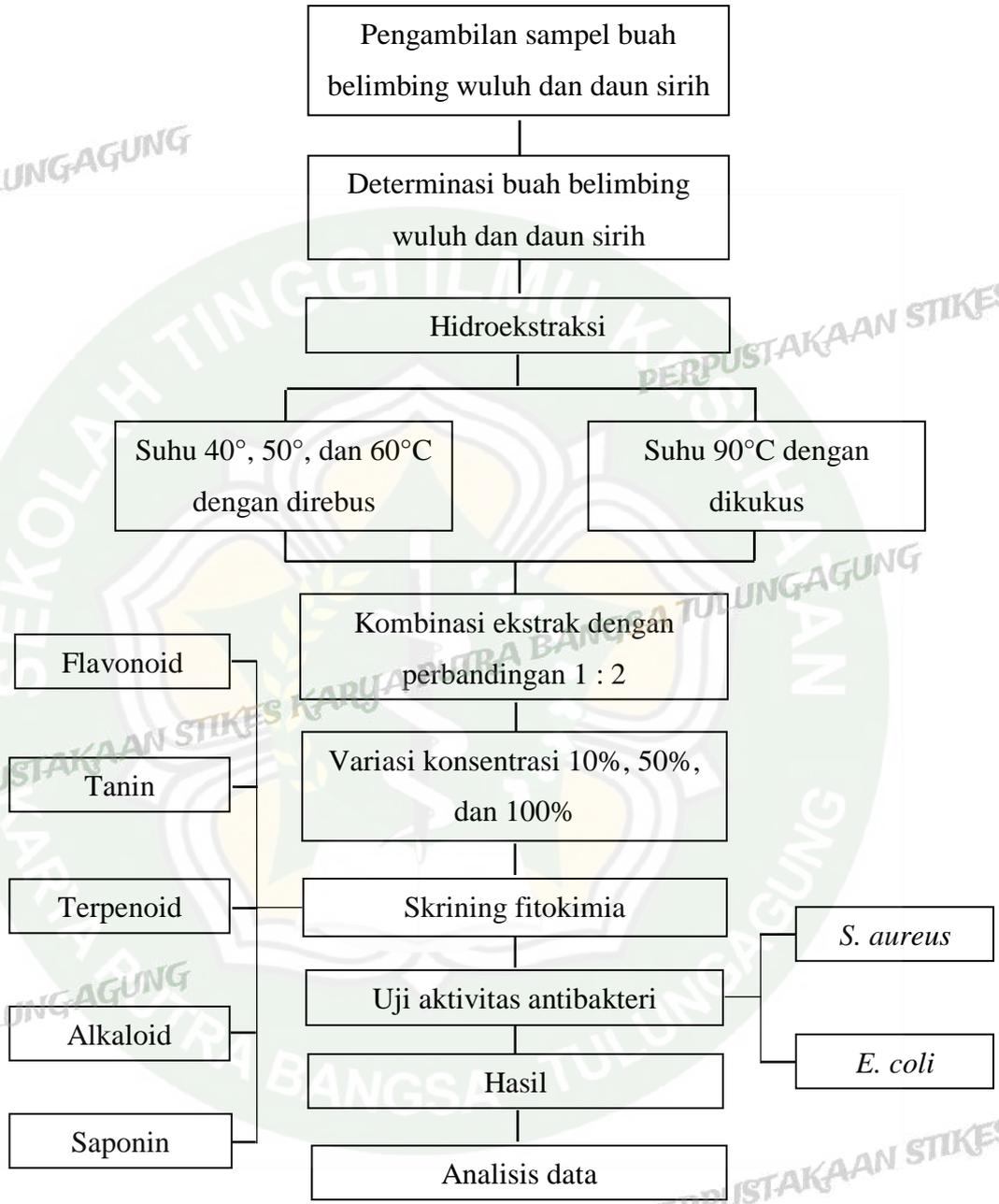
### 3.9.5 Uji *Kruskal-Wallis*

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

## 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-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b :Oxalodaceae-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 dengan nomor 074/481/102.20-A/2022 tanaman belimbing wuluh terdapat pada **Lampiran 1**. menunjukkan morfologi habitus : Pohon, tinggi 5-10m. 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 7-10cm, lebar 1-3cm, bertangkai pendek, pertulangan menyirip, hijau muda, hijau. Bunga : Majemuk, bentuk malai, pada tonjolan batang dan cabang, menggantung, Panjang 5-20cm, kelopak  $\pm$  6mm, merah, daun mahkota bergandengan, bentuk lanset, ungu. Buah : Buni, bulat, Panjang 4-6cm, hijau kekuninga. Biji : Lanset atau segi tiga, masih muda hijau setelah tua kuning kehijauan. Akar : Tunggang, coklat kehitaman. Berdasarkan surat hasil determinasi dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman belimbing wuluh.

Surat hasil determinasi dengan nomor 074/480/102.20-A/2022 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 5-8cm, lebar 2-5cm, bertangkai, permukaan halus, pertulangan

menyirip, hijau, hijau tua. Bunga : Majemuk, bentuk bulir, daun pelindung  $\pm$  1mm, 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 kekuninga. Berdasarkan surat hasil determinasi dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman daun sirih.

#### 4.2 Pembuatan Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih

Pada pemanenan buah belimbing wuluh, buah yang dipanen harus memiliki kriteria berwarna hijau kekuningan dan tidak terdapat kerusakan fisik (Tiara *et al.*, 2021). Sedangkan pada daun sirih pemanenan dilakukan pada umur tanaman minimal 4 bulan, waktu panen berdasarkan umur fisiologis terdiri atas umur muda (daun ketiga dari pucuk), umur sedang (daun keenam dari pucuk), dan umur tua (daun kedelapan dari pucuk) sedangkan waktu panen paling bagus pada pagi dan sore hari pada umur fisiologis sedang, karena zat aktifnya tinggi (Eryanto, 2021). Pembuatan kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) menggunakan metode hidroekstraksi. Metode ini digunakan karena mudah diaplikasikan ke masyarakat, serta metode hidroekstraksi merupakan salah satu metode ekstraksi yang ekonomis sehingga mampu menghemat biaya produksi. Metode ini memiliki tujuan untuk menarik senyawa-senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, alkaloid, dan saponin pada tanaman sehingga ekstrak memiliki potensi antimikroba (Rahayu *et al.*, 2016). Senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin cenderung bersifat polar, sedangkan alkaloid cenderung bersifat semi polar sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat larut dalam pelarut polar seperti aquadest (Kopon *et al.*, 2020).

Hidroekstraksi dengan metode rebus dilakukan dengan menyiapkan aquadest sebanyak 100 mL lalu dipanaskan diatas *waterbath* dengan pengaturan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C lalu masukkan masing-masing bahan yang sudah ditimbang sebanyak 100 gram. Perebusan dilakukan selama  $\pm$  30 menit, apabila waktu perebusan semakin lama maka senyawa yang ada

didalam ekstrak yang tidak tahan pemanasan akan rusak (Puspitasari & Prayogo, 2016). Aquadest merupakan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi produk tumbuhan dengan aktivitas antimikroba (Charisma, 2020). Sedangkan pada metode kukus dilakukan dengan menyiapkan dandang yang sudah disiapkan dan ditunggu sampai suhu mencapai 90°C lalu dimasukkan masing-masing bahan sebanyak 100 gram tunggu selama  $\pm$  30 menit. Filtrat yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan kain penyari.

Pada penelitian ini membuat larutan uji kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau dengan perbandingan 1:2 (10 mL : 20 mL) lalu dilakukan pengenceran menggunakan aquadest dengan volume masing-masing 10 mL. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 10%, 50%, dan 100%.

Pengenceran pada konsentrasi yang dilakukan sebagai berikut. Konsentrasi 10% dibuat dengan 1 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 9 mL, konsentrasi 50% dibuat dengan 5 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 5 mL, dan konsentrasi 100% dibuat dengan 10 mL ekstrak kombinasi tanpa penambahan aquadest.

#### **4.3 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih. Hasil uji skrining fitokimia kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih dapat dilihat pada tabel 4.1 dan Gambar 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Uji Skrining Fitokimia Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih

Golongan Senyawa	Pereaksi	Keterangan	Hasil
Flavonoid	HCl Pekat	Merah	+
Tannin	FeCl <sub>3</sub>	Hijau kehitaman	+
Terpenoid	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> + C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> HSO <sub>4</sub>	Merah	+
Alkaloid	HCl 2 N + pereaksi mayer + pereaksi dragen	Coklat kemerahan	+
Saponin	Air panas + HCl 1N	Busa stabil	+

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

Hasil uji skrining fitokimia kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak belimbing wuluh dan daun sirih mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponin.

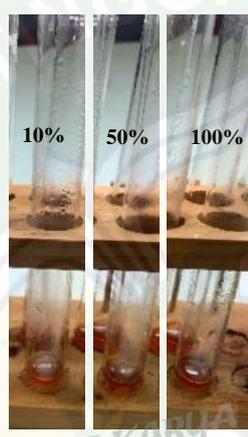
**4.3.1 Flavonoid**

Uji skrining fitokimia pada ekstrak yaitu untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid di dalam ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol dimana memiliki sifat antibakteri karena mempunyai gugus hidroksil dan karbonil yang dapat berinteraksi dengan sel bakteri (Januarti *et al.* 2019). Flavonoid bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen. Dalam proses ekstraksi, senyawa flavonoid dalam tanaman akan mudah terlarut atau terikat oleh pelarut dengan sifat kepolarannya (Agustina *et al.*, 2018)



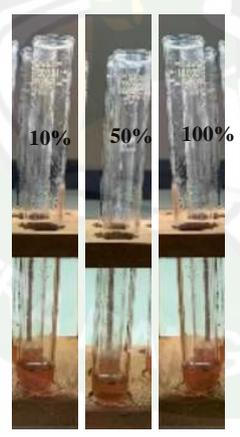
(a)

(b)



(c)

(d)



(e)

**Gambar 4.1** Uji Skrining Fitokimia Flavonoid. (a) Ekstrak sebelum diberi perlakuan, (b) Skrining Flavonoid suhu 40°C, (c) Skrining Flavonoid suhu 50°C, (d) Skrining Flavonoid suhu 60°C, (e) Skrining Flavonoid suhu 90°C.

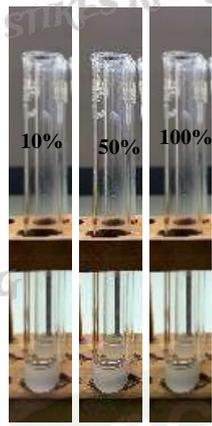
Pada Gambar 4.1 menunjukkan bahwa sampel mengalami perubahan warna menjadi merah sehingga dinyatakan positif hal tersebut dikarenakan penambahan HCl pekat untuk mereduksi ikatan glikosida dan flavonoid serta proses pemanasan pada tabung yang berfungsi untuk mempercepat terjadinya reaksi tersebut (Muthmainnah, 2019).

#### 4.3.2 Alkaloid

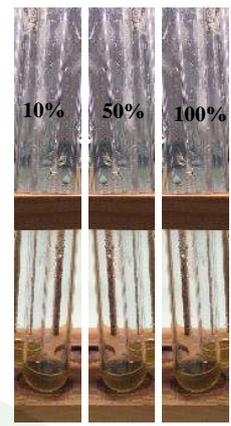
Uji skrining alkaloid pada ekstrak yaitu untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid di dalam ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hal tersebut ditandai dengan adanya endapan berwarna coklat kemerahan. Endapan yang terbentuk dikarenakan penambahan pereaksi Mayer dan pereaksi Dragendroff dalam senyawa alkaloid. Reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti ion iodo pada pereaksi-pereaksi. Pereaksi Dragendroff mengandung bismut nitrat dan kalium iodide dalam larutan asam asetat glasial, sedangkan pada pereaksi Mayer mengandung kalium iodide dan merkuri klorida (Ergina *et al.* 2014).

Senyawa alkaloid merupakan senyawa polar karena golongan senyawa alkaloid yang berpotensi sebagai antibakteri merupakan senyawa-senyawa polar, yang akan terekstraksi pada pelarut yang bersifat polar (Sa'adah *et al.*, 2015).

Pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa terdapat endapan pada sampel. Mekanisme penghambatan alkaloid yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel (Dwicaayani *et al.*, 2018).



(a)



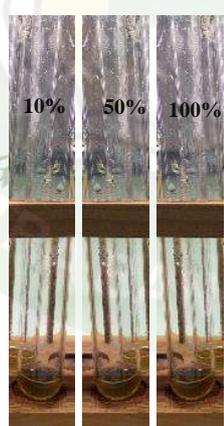
(b)



(c)



(d)



(e)

**Gambar 4.2** Uji Skrining Fitokimia Alkaloid. (a) Ekstrak sebelum diberi perlakuan, (b) Skrining Alkaloid suhu 40°C, (c) Skrining Alkaloid suhu 50°C, (d) Skrining Alkaloid suhu 60°C, (e) Skrining Alkaloid suhu 90°C.

### 4.3.3 Tanin

Uji skrining tanin pada ekstrak yaitu untuk mengetahui adanya senyawa tanin di dalam ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Penggunaan  $\text{FeCl}_3$  untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol, sehingga apabila memberikan hasil positif dimungkinkan dalam sampel terdapat senyawa fenol dan salah satunya merupakan tanin. Tanin merupakan senyawa polifenol (Ergina *et al.* 2014).

Senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, ketika ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  10% akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin (Wahid & Safwan, 2020).

Berdasarkan Gambar 4.3 menunjukkan bahwa hasil uji skrining fitokimia ekstrak kombinasi buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan  $\text{FeCl}_3$  menghasilkan warna hijau kehitaman. Perubahan warna tersebut menandakan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan  $\text{Fe}^{3+}$ . Hal tersebut dikarenakan adanya ion  $\text{Fe}^{3+}$  sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan electron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligananya (Ergina *et al.* 2014).



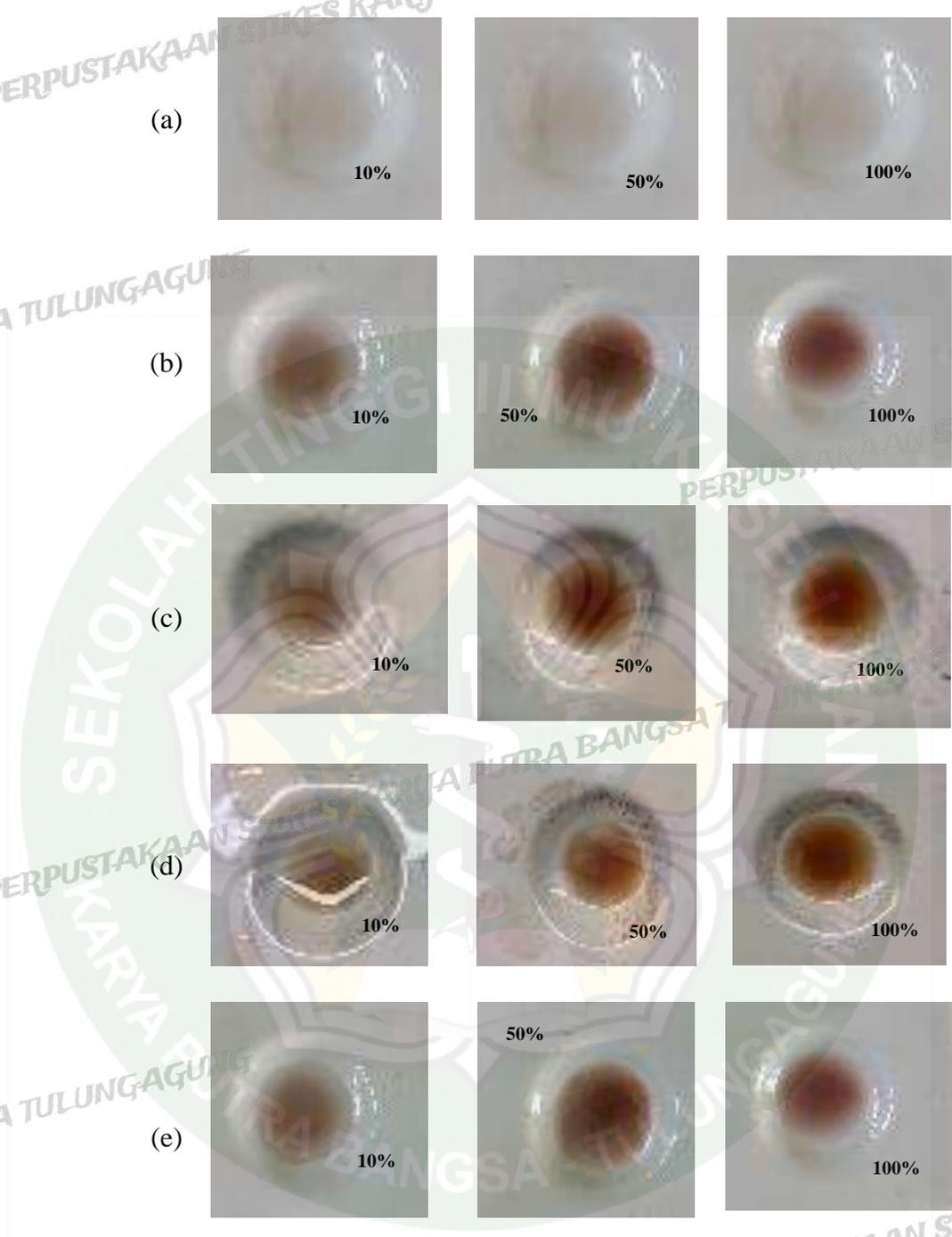
**Gambar 4.3** Uji Skrining Fitokimia Tanin. (a) Ekstrak sebelum diberi perlakuan. (b) Skrining Tanin suhu 40°C, (c) Skrining Tanin suhu 50°C, (d) Skrining Tanin suhu 60°C, (e) Skrining Tanin suhu 90°C.

#### 4.3.4 Terpenoid

Uji skrining terpenoid pada ekstrak yaitu untuk mengetahui adanya senyawa terpenoid di dalam ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Terdapatnya senyawa terpenoid pada ekstrak dikarenakan terpenoid merupakan senyawa non polar yang tidak mudah larut dalam air dimana air merupakan senyawa yang bersifat polar (Sulistyarini *et al.* 2020).

Terpenoid memiliki bagian polar dan non polar, tetapi bagian non polar pada terpenoid jauh lebih banyak dibandingkan 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 (Pangestuti *et al.*, 2017).

Pada Gambar 4.4 menunjukkan bahwa adanya perubahan warna pada ekstrak. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena adanya oksidasi pada senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjungasi. Penambahan asam asetat anhidrat bertujuan untuk membentuk turunan asetil. Penambahan asam sulfat pekat bertujuan untuk menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil membentuk larutan warna (Sulistyarini *set al.* 2020).



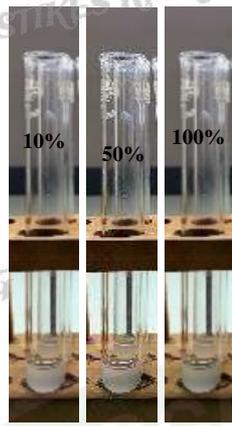
**Gambar 4.4** Uji Skrining Fitokimia Terpenoid. (a) Ekstrak sebelum diberi perlakuan, (b) Skrining Terpenoid suhu 40°C, (c) Skrining Terpenoid suhu 50°C (d) Skrining Terpenoid suhu 60°C, (e) Skrining Terpenoid suhu 90°C.

#### 4.3.5 Saponin

Uji skrining saponin pada ekstrak yaitu untuk mengetahui adanya senyawa saponin di dalam ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya busa stabil yang ditunjukkan pada Gambar 4.5. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat di dalam saponin menyebabkan cenderung bersifat polar (Sulistyarini *et al.* 2020).

Saponin merupakan glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon (sapogenin) yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid (Charisma, 2020). Saponin memiliki sifat cenderung polar karena ikatan glikosidanya. Struktur saponin menyebabkan saponin bersifat seperti deterjen (Damayanti, 2021).

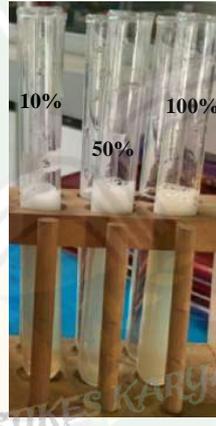
Penambahan HCl pada sampel mampu membuat busa yang terbentuk lebih stabil. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar sebagai surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Saat dilakukan penggojokan, gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga membentuk busa (Sulistyarini *et al.* 2020).



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

**Gambar 4.5** Uji Skrining Fitokimia Saponin. (a) Ekstrak sebelum diberi perlakuan, (b) Skrining Saponin suhu 40°C, (c) Skrining Saponin suhu 50°C, (d) Skrining Saponin suhu 60°C, (e) Skrining Saponin suhu 90°C.

#### 4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan daun sirih (*piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* 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 suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 90°C pada konsentrasi 10%, 50%, dan 100% dengan kloramfenikol tablet dan dilakukan perhitungan yang dapat diamati pada **Lampiran 5**. sebagai kontrol positif serta aquadest sebagai kontrol negatif. Variasi suhu mengacu pada penelitian Rahayu (2016) dimana metode rebus menggunakan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C. Sedangkan metode kukus menggunakan suhu 90°C. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Rahayu pada tahun 2016 menyatakan bahwa konsentrasi 10% dan 50% sudah diketahui efektivitas suatu senyawa, sedangkan pengambilan konsentrasi 100% karena untuk mengetahui hasil dari konsentrasi kombinasi yang murni tanpa ada pelarut.

Menurut penelitian yang telah dilakukan Suryowardojo *et al* (2015) menjelaskan bahwa diameter zona hambat  $\leq 5$  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  $\geq 21$  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 suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 90°C serta variasi konsentrasi 10%, 50%, dan 100% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil pengukuran zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan daun sirih (*piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel berikut ini :

**Tabel 4.2** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Konsentrasi	Zona Hambat							
	40°C	KRH	50°C	KRH	60°C	KRH	90°C	KRH
10%	15,59	K	15,33	K	13,33	K	9,83	S
50%	17,67	K	21	SK	14	K	11	K
100%	20,67	K	25,5	SK	15,33	K	14	K
K+	32,83	SK	32,83	SK	32,83	SK	32,83	SK
K-	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM

Keterangan :

KRH : Kategori Respon Hambat

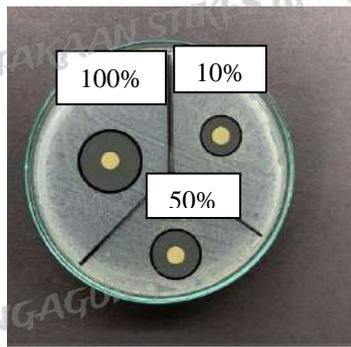
TM : Tidak Menghambat

S : Sedang

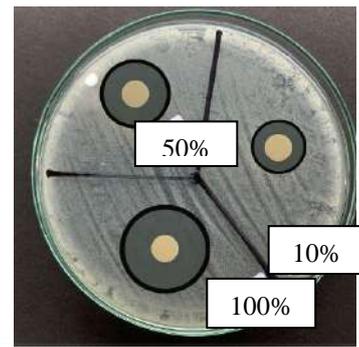
K : Kuat

SK : Sangat Kuat

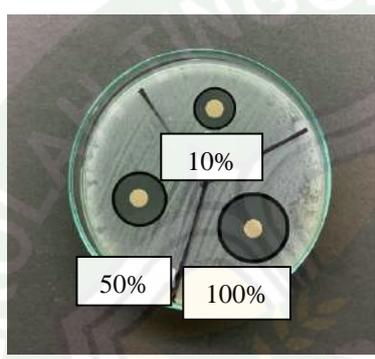
Pada Tabel 4.2 dapat dilihat bahwa diameter zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki nilai dan kriteria kekuatan antibakteri yang berbeda. Pada suhu 40°C konsentrasi 10%, 50%, dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Pada suhu 50°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kuat serta pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sangat kuat. Pada suhu 60°C konsentrasi 10%, 50%, dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Sedangkan pada suhu 90°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat sedang serta pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat.



(a)



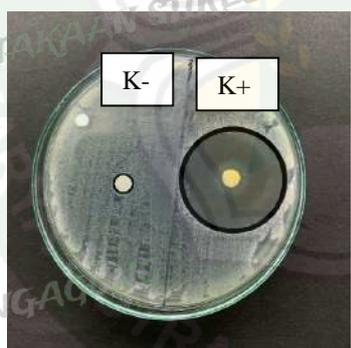
(b)



(c)



(d)



(e)

**Gambar 4.6** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. (a) Zona hambat suhu 40°C, (b) Zona hambat suhu 50°C, (c) Zona hambat suhu 60°C, (d) Zona hambat suhu 90°C, (e) Zona hambat K- dan K+.

Pada Gambar 4.6 terlihat bahwa konsentrasi yang memiliki nilai diameter zona hambat yang paling besar yaitu pada suhu 50°C konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat mencapai 25,5 mm sedangkan untuk zona

hambat yang paling kecil yaitu terdapat pada suhu 90°C konsentrasi 10% dengan zona hambat mencapai 9,83 mm. Penelitian ini sesuai dengan teori Kulla (2022) yang menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar. Serta sesuai dengan penelitian Tilarso *et al.* (2022) yang menjelaskan bahwa suhu 50°C merupakan suhu optimum dalam metode hidroekstraksi.

#### 4.5 Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan daun sirih (*piper betle*) terhadap bakteri *Escherichia coli* 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 suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 90°C pada konsentrasi 10%, 50%, dan 100% dengan kloramfenikol tablet dan dilakukan perhitungan yang dapat diamati pada **Lampiran 5**. sebagai kontrol positif serta aquadest sebagai kontrol negatif.. Hasil pengukuran zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan daun sirih (*piper betle*) terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada tabel berikut ini :

**Tabel 4.3** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Konsentrasi	Zona Hambat							
	40°C	KRH	50°C	KRH	60°C	KRH	90°C	KRH
10%	9,83	S	9,33	S	9,83	S	2,5	L
50%	11,33	K	17,5	K	10,67	S	9,17	S
100%	11,83	K	20,17	K	11,33	K	10,67	S
K+	22,17	SK	22,17	SK	22,17	SK	22,17	SK
K-	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM

Keterangan :

KRH : Kategori Respon Hambat

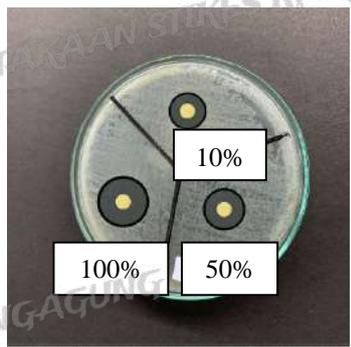
TM : Tidak Menghambat

S : Sedang

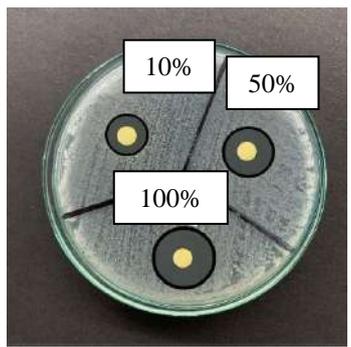
K : Kuat

SK : Sangat Kuat

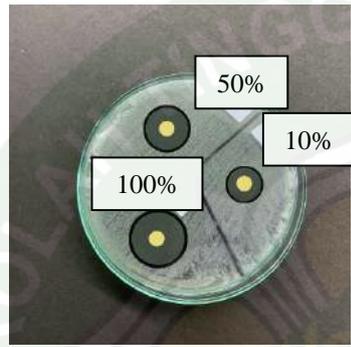
Pada Tabel 4.3 dapat dilihat bahwa diameter zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 memiliki nilai dan kriteria kekuatan antibakteri yang berbeda. Pada suhu 40°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang dan pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Pada suhu 50°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang dan pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Pada suhu 60°C konsentrasi 10% dan 50% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang dan konsentrasi 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Sedangkan pada suhu 90°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori lemah dan pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang.



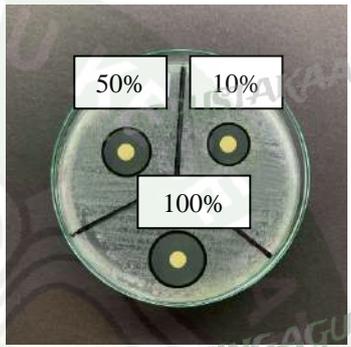
(a)



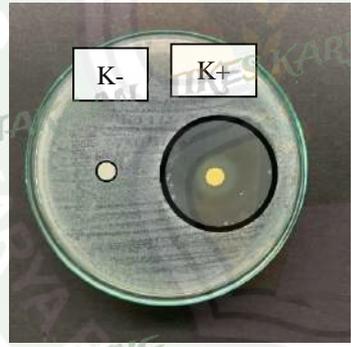
(b)



(c)



(d)



(e)

**Gambar 4.7** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. (a) Zona hambat suhu 40°C, (b) Zona hambat suhu 50°C, (c) Zona hambat suhu 60°C, (d) Zona hambat suhu 90°C, (e) Zona hambat K- dan K+.

Pada Gambar 4.7 terlihat bahwa konsentrasi yang memiliki nilai diameter zona hambat optimum mendekati kontrol positif yaitu pada suhu 50°C konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat mencapai 20,17 mm sedangkan untuk zona hambat yang paling kecil yaitu terdapat pada suhu 90° konsentrasi 10% dengan zona hambat mencapai 2,5 mm. Diameter yang

dihasilkan oleh kontrol positif yang terbentuk yaitu 22,17 mm. Hal tersebut disebabkan kloramfenikol yang merupakan antibiotik dengan spektrum yang luas dan juga bersifat bakteriostatik dengan menghambat sintesa protein bakteri Gram positif dan negatif (Kulla, 2022). Pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Tilarso *et al.* (2022) yang menjelaskan bahwa suhu 50°C merupakan suhu optimum dalam metode hidroekstraksi.

Kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki kemampuan sebagai antibakteri berasal dari kandungan senyawa yang terdapat di dalamnya yaitu senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja yaitu merusak membran sitoplasma dengan cara menyerang fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, sehingga menyebabkan kebocoran pada membran sitoplasma dan zat-zat yang berfungsi untuk metabolisme sel bakteri terbuang keluar yang mengakibatkan terjadinya kematian pada bakteri (Amanda *et al.*, 2019).

Senyawa tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Noventi & Carolia, 2016). Adanya senyawa alkaloid mekanisme penghambatannya yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membrane sel (Retnowati *et al.* 2018).

Senyawa terpenoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara bereaksi dengan porin yang terdapat di membrane luar dinding sel bakteri lalu membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Akibat dari rusaknya porin yaitu sel bakteri kekurangan nutrisi dan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau mati (Misna & Diana, 2016). Sedangkan senyawa saponin memiliki kandungan molekul yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga mampu menurunkan tegangan pada permukaan sel dan permeabilitas membrane menjadi rusak. Gangguan yang terjadi pada permukaan dinding sel dan permeabilitas membrane sel akan

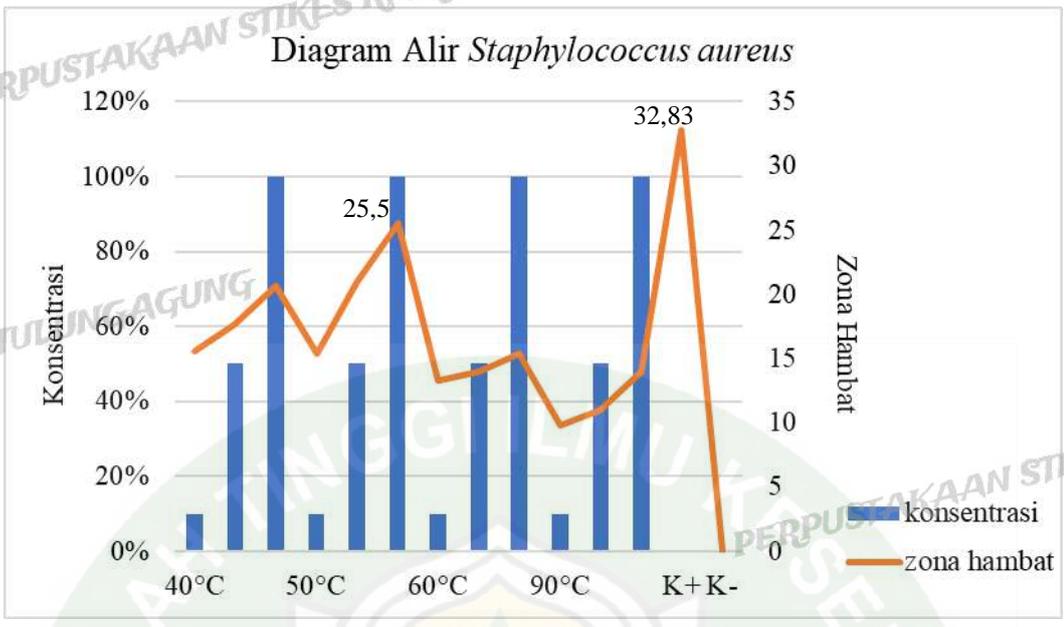
menyebabkan kandungan antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel sehingga sel mengalami kematian (Sari *et al.*, 2017).

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 sangat kuat pada suhu 50°C konsentrasi 50% dan 100%, sedangkan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan kategori kuat pada suhu 40°C konsentrasi 50% dan 100%, suhu 50°C konsentrasi 50% dan 100%, dan 60°C konsentrasi 100%. Hasil diameter zona hambat yang dihasilkan 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 tersebut disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri Gram positif yang bersifat lebih sensitif. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki dinding dari peptidoglikan yang bersifat polar sehingga senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan karena bersifat polar (Karlina *et al.*, 2013).

#### 4.6 Analisis Data

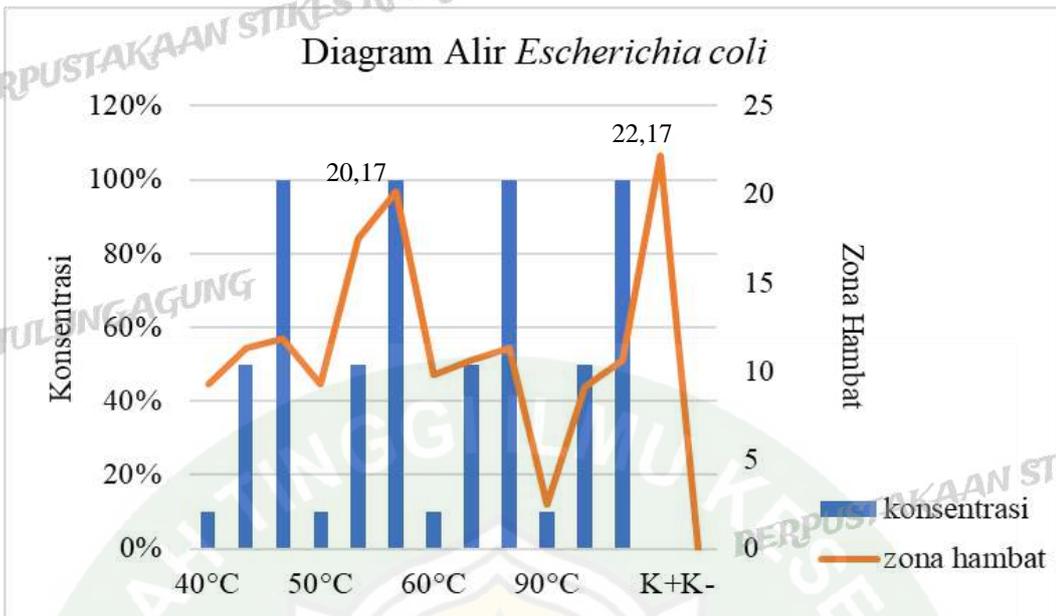
##### 4.6.1. Diagram Alir

Hasil pengamatan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* 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 suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 90°C pada konsentrasi 0%, 10%, 50%, dan 100% dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif.



**Gambar 4.8** Rata-Rata Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Terhadap Pengaruh Suhu dan Konsentrasi

Gambar 4.8 menunjukkan bahwa zona hambat optimum dihasilkan pada konsentrasi 100% suhu 50°C dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Pada suhu 40°C memiliki zona hambat yang kecil dikarenakan senyawa yang terdapat pada buah belimbing wuluh dan daun sirih tidak dapat keluar dengan sempurna. Sedangkan pada suhu 60°C dan 90°C zona hambat yang kecil disebabkan kandungan antimikroba berupa senyawa flavonoid, saponin dan tanin tidak tahan terhadap suhu tinggi (Rahayu, 2016).



**Gambar 4.9** Rata-Rata Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Pengaruh Suhu dan Konsentrasi

Gambar 4.9 menunjukkan bahwa zona hambat optimum dihasilkan pada konsentrasi 100% suhu 50°C dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Pada konsentrasi 50% juga menunjukkan hasil yang kuat pada penghambatan suhu. Pada suhu 40°C memiliki zona hambat yang kecil dikarenakan senyawa yang terdapat pada buah belimbing wuluh dan daun sirih tidak dapat keluar dengan sempurna. Sedangkan pada suhu 60°C zona hambat yang kecil disebabkan kandungan antimikroba berupa senyawa flavonoid, saponin dan tanin tidak tahan terhadap suhu tinggi (Rahayu, 2016). Pada konsentrasi 10% di suhu 90°C zona hambat yang dihasilkan rendah dikarenakan pada suhu tersebut senyawa antimikroba aktivitasnya semakin menurun (Rahayu, 2016).

**4.6.2. Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)**

Berdasarkan analisis data menggunakan SPSS, hasil dari sampel suhu 50°C pada masing-masing konsentrasi 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 pada bakteri *Stapylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel 4.4

**Tabel 4.4** Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* ATCC 25923

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Diameter Zona Hambat
	N	15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	19.1527
	Std. Deviation	11.40932
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.153
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.654
Asymp. Sig. (2-tailed)		.786

Hasil dari uji normalitas pada bakteri *Stapylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa nilai *p-value* signifikansi sebesar 0,786 ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal atau  $H_0$  diterima, sedangkan hasil dan uji normalitas pada bakteri *Eescherichia coli* ATCC 25922 dapat dilihat pada tabel 4.5

**Tabel 4.5** Hasil Uji Normalitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Eescherichia coli* ATCC 25922

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		Diameter Zona Hambat	Variasi Konsentras i
	N	15	15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	13.9173	3.00
	Std. Deviation	8.50916	1.464
Most Extreme Differences	Absolute	.256	.153
	Positive	.157	.153
	Negative	-.256	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.991	.592
Asymp. Sig. (2-tailed)		.280	.875

Hasil dari uji normalitas pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa nilai *p-value* signifikansi sebesar 0,875 ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal atau  $H_0$  diterima. Kemudian dilakukan analisis varian data menggunakan *Levene's test* pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan nilai *p-value* signifikansi sebesar 0,236 ( $p > 0,05$ ) dan pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 nilai *p-value* signifikansi sebesar 0,295 ( $p > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data pada penelitian ini homogen.

**Tabel 4.6** Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.655	4	10	.236

**Tabel 4.7** Hasil Uji Homogenitas Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

<b>Test of Homogeneity of Variances</b>			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.426	4	10	.295

Uji hipotesa 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 Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1820.785	4	455.196	2789.535	.000
Within Groups	1.632	10	.163		
Total	1822.417	14			

**Tabel 4.9** Hasil Uji *One Way Anova* Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1013.515	4	253.379	15312.985	.000
Within Groups	.165	10	.017		
Total	1013.681	14			

Pengujian dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Hasil uji *Duncan* pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi berbeda signifikan dan yang mendekati nilai dari kontrol positif adalah konsentrasi 100% dengan nilai sig 25,9 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 *Duncan* Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

		Diameter Zona Hambat					
	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	.0000				
	Konsentrasi 10%	3		15.843			
	Konsentrasi 50%	3			21.500		
	Konsentrasi 100%	3				25.943	
	Kontrol Positif	3					32.476
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

**Tabel 4.11** Hasil Uji *Duncan* Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

		Diameter Zona Hambat					
	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	.0000				
	Konsentrasi 10%	3		9.4767			
	Konsentrasi 50%	3			17.443		
	Konsentrasi 100%	3				20.333	
	Kontrol Positif	3					22.333
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Hasil uji *Duncan* pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi bebedda signifikan dan yang mendekati nilai dari kontrol positif adalah konsentrasi 100% dengan nilai sig 20,3 sehingga konsentrasi optimum dari aktivitas antibakteri kombinasi

ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah konsentrasi 100%.

Hasil konsentrasi optimum pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu pada konsentrasi 100% dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Hal tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi ekstrak memenuhi 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).

Metode hidroekstraksi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih belum efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 jika dibandingkan dengan metode lain. Salah satu penyebabnya yaitu menggunakan pelarut aquadest dimana sifat dari aquadest yaitu mudah ditumbuhi jamur. Selain itu dapat dikarenakan pada metode maserasi masing-masing ekstrak tunggal buah belimbing wuluh dan daun sirih 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 penelitian dan pembahasan pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Variasi suhu kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menunjukkan bahwa pemanasan optimum terdapat pada suhu 50°C yang menunjukkan bahwa memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 pada uji antibakteri.
2. Kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih pada suhu 50°C memiliki daya hambat optimum pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 25,5 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat dan pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Escherichia coli* ATCC 25922 sebesar 20,17 mm yang termasuk dalam kategori kuat.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik saran sebagai berikut :

1. Diharapkan adanya penelitian 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. Identifikasi jumlah senyawa menggunakan LC-MS.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., Lusiana, N., Purnamasari, R., & Hadi, M. I. (2018). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Biotropic: The Journal of Tropical Biology*, 2(2), 108–118. <https://doi.org/10.29080/biotropic.2018.2.2.108-118>
- Amanda, E. A., Oktiani, B. W., & Panjaitan, F. U. (2019). Efektivitas antibakteri ekstrak flavonoid propolis *Trigona Sp* (*Trigona thorasica*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Dentin*, 3(1).
- Amperawati, S., Hastuti, P., Pranoto, Y., Santoso, U., Studi, P., Pengolahan, T., Perkebunan, H., Pertanian, J. T., & Pontianak, N. (2019). Efektifitas Frekuensi Ekstraksi Serta Pengaruh Suhu dan Cahaya Terhadap Antosianin dan Daya Antioksidan Ekstrak Kelopak Rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) Extraction Frequency Effectiveness and Effect of Temperature and Light on Anthocyanin and Antioxidant C. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(1), 2019. <https://doi.org/10.17728/jatp.3527>
- 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).
- Arlofa, N. (2015). Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian sebagai Bahan Aktif Pembuatan Sabun. *Jurnal Chemtech*, 1(01), 343–354.
- Astriyani, W., Surjowardojo, P., & Susilorini, T. (2017). Daya hambat ekstrak buah mahkota dewa (*phaleria macrocarpa l.*) Dengan pelarut ethanol dan aquades terhadap bakteri *staphylococcus aureus* penyebab mastitis pada sapi perah. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 18(2), 8–13. <https://doi.org/10.21776/ub.jtapro.2017.018.02.2>
- Astuty, E., & Wibriyono, O. (2022). *Pelatihan Sterilisasi Alat Dan Bahan Medis Pada Anggota Tim Bantuan Medis Vertebrae Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura*. 1(5), 284–290.
- B, H. S., Rinawati, L. P., Laksmi, L. P., Gda, D., Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus*, D., Bagus Oka Suyasa, I., Setiyo Bekti, H., Putu Rinawati, L., Putu Laksmi, L., Diah Wahyuni, P., Gede Dwi Agustini, D., & Rakhmawati, A. (2022). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Surabaya: The Journal of Muhamadiyah Medical Laboratory Technologist*, 1(5), 29–41.

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).

Budyghifari, L., Laga, A., K. Sukendar, N., & Muhipdah. (2022). Efektivitas Lama dan Metode Blansir terhadap Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* l.). *Jurnal Mutu Pangan : Indonesian Journal of Food Quality*, 8(2), 105–112. <https://doi.org/10.29244/jmpi.2021.8.2.105>

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.

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.

Eryanto, P. (2021). PERBEDAAN WAKTU PEMANENAN TERHADAP MUTU KIMIA DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle*, Linn.) (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SULTAN SYARIF KASIM RIAU).

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>

Febriza, M. A., Adrian, Q. J., & Sucipto, A. (2021). Penerapan Ar Dalam Media Pembelajaran Klasifikasi Bakteri. *Jurnal BIOEDUIN: Program Studi Pendidikan Biologi*, 11(1), 10–18. <https://journal.uinsgd.ac.id/index.php/bioeduin/article/view/12076>

Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86. <https://doi.org/10.17728/jatp.4201>

Hidayati, S. N., Armansyah, T., Dewi, M., Jamin, F., & Bauer, K. (2016). 7. PERTUMBUHAN *Escherichia coli* Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) The Effect of Bay Leaf (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp.) Extract on the Growth of *Escherichia coli* Isolated fro. 7. *Pertumbuhan Escherichia Coli Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (Syzygium Polyanthum [Wight.] Walp.) The Effect of Bay Leaf (Syzygium Polyanthum [Wight.] Walp.) Extract on the Growth of*

*Escherichia Coli Isolated Fro*, 10(2), 2007–2010.  
<https://doi.org/10.21157/j.med.vet.v10i2.4636>

Humaida, R. (2014). Strategy To Handle Resistance Of Antibiotics. *J Majority*, 3, 113.

Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. (2019). Potensi ekstrak terpurifikasi daun sirih merah (*piper crocatum ruiz & pav*) sebagai antioksidan dan antibakteri. *J Pharm Sci*, 2, 61.

Juniasti, S., & Kosman, R. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Asal Kota Watampone. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 7(1), 60-69.

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. M., Hadinoto, S., & Idrus, S. (2019). *Disetujui : 23-05-2019*. 13(1).

Kopon, A. M., Baunsele, A. B., & Boelan, E. G. (2020). Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea Americana Mill.*) Asal Pulau Timor. *Akta Kimia Indonesia*, 5(1), 43-52.

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.

Kuntaarsa, A., Achmad, Z., & Subagyo, P. (2021). Ekstraksi Biji Ketumbar Dengan Mempergunakan Pelarut N-Heksana. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 14(1), 60–73.

Lisnawati, N., & Prayoga, T. (2020). Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Jakad Media Publishing.

Lubis, M. S., Meilani, D., Yuniarti, R., & Dalimunthe, G. I. (2019). PKM penyuluhan penggunaan antibiotik kepada masyarakat Desa Tembung. *Amaliah: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1), 297-301.

Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7.  
<https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27978>

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.
- Misna, & Diana, K. (2016). *Aktivitas Bakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (Allium cepa L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus Antibacterial Activity Extract Of Garlic (Allium cepa L.) Skin Against Staphylococcus aureus*. 2(2).
- Najib, A. (2018). Ekstraksi senyawa bahan alam. Deepublish.
- 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. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121>
- Noventi, W. R.-4272-2-P. pdfa., & Carolia, N. (2016). Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) sebagai Alternatif Terapi *Acne vulgaris* The Potential of Green Sirih Leaf (*Piper betle L.*) for Alternative Therapy *Acne vulgaris*. *Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*, Vol. 5(1), Hal. 140.
- Nur, A., & Fajar, D. R. (2019). Identifikasi Senyawa Kimia Pada Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Kieraha Medical Journal*, 1(1), 1–6. <https://doi.org/10.33387/kmj.v1i1.1740>
- Pangestuti, I. E., Summardianto, & Amalia, U. (2017). Skrining senyawa fitokimia rumput laut *Sargassum sp.* dan aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)*, 12(2), 98–102.
- 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.
- Puspitasari, A. D., & Prayogo, L. S. (2016). Pengaruh waktu perebusan terhadap kadar flavonoid total daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 1(2).
- Putri Efendi, A. P., Sholikah, N., & Ismawati, R. (2020). Pembuatan Hand Sanitizer Alami Dengan Memanfaatkan Tumbuhan Daun Sirih Di Rw 04 Desa Setia Mekar. *ABDIPRAJA (Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat)*, 1(1), 29. <https://doi.org/10.31002/abdipraja.v1i1.3197>
- Rahayu, M. P., & Leviana, F. (2022). ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF

- KARANDA (*Carissa carandas*) LEAF AND FRUIT EXTRACT TO AGAINST *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. *JKPharm Jurnal Kesehatan Farmasi*, 4(1), 47-52.
- 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.
- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2015). Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal ilmiah manuntung*, 1(2), 149-153.
- Sari, D. P., & Al Basyarahil, B. (2021). Analisis Zona Hambat Ekstrak Brokoli (*Brassica Oleracea* L. Var *Italica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Indonesia Journal Pharmaceutical and Herbal Medicine*, 1(1), 34–38.
- 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/psr.v4i3.3756>
- Sheira Rait, A., Nurhasanah, N., & Abadi Kiswandono, A. (2021). Analisis Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) Pada Handsoap Menggunakan Metode Cakram. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 6(02), 122–133.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*, 5(1).
- Surjowardojo, P., Susilawati, T. E., & Sirait, G. R. (2016). Daya hambat dekok kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. penyebab mastitis pada sapi perah. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 16(2), 40-48.
- Sutiknowati, L. I. (2016). “Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*.” *Jurnal Oseana*, 41(4), 63–71. [oseanografi.lipi.go.id](http://oseanografi.lipi.go.id)
- Tandi, J., Lalu, R., Kenta, Y. S., & Nobertson, R. (2020). Uji Potensi Nefropati Diabetes Daun Sirih Merah (*Piper croatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 239-251.
- Tiara, E. I., & Murtini, E. S. (2021). Aplikasi metode osmosis pada pembuatan sari belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan tambahan pewarna bunga mexican petunia (*Ruellia simplex*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 22(2), 139-

Triyani, M. A., Pengestuti, D., Khotijah, S. L., & Fajarwati, D. (2021). Nectar : Jurnal Pendidikan Biologi Aktivitas Antibakteri Hand Sanitizer Berbahan Ekstrak Daun Sirih dan Ekstrak Jeruk Nipis. *Nectar: Jurnal Pendidikan Biologi*, 2(1), 16–23.

Ulfah, M. U. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal FARMAKU (Farmasi Muhammadiyah Kuningan)*, 5(1), 25–31. <https://stikes-muhammadiyahku.ac.id/ojs.stikes-muhammadiyahku.ac.id/index.php/jurnalfarmaku/article/view/82>

Wahid, A. R., & Safwan, S. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), 24. <https://doi.org/10.31764/lf.v1i1.1208>

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>

Widianingsih, D. (2018). Kepemilikan manajerial, kepemilikan institusional, komisaris independen, serta komite audit pada nilai perusahaan dengan pengungkapan csr sebagai variabel moderating dan firm size sebagai variabel kontrol. *Jurnal akuntansi dan Pajak*, 19(01), 38-52.

Widiyastuti, Y., Haryanti, S., & Subositi, D. (2016). Karakterisasi Morfologi dan Kandungan Minyak Atsiri Beberapa Jenis Sirih (*Piper* sp.). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 3(April), 474–481. <https://doi.org/10.25026/mpc.v3i2.148>

Wihansah, R. R. S., et al. (2018). *pISSN-1978-3000 eISSN-2528-7109*. 13(1), 36–42.

Yanti, S., & Vera, Y. (2019). Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 4(2), 41–46.

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.

# LAMPIRAN

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



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
 DINAS KESEHATAN  
**UPT LABORATORIUM HERBAL**  
**MATERIA MEDICA BATU**  
 Jl. Lahor 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 : *Averrhoa bilimbi* L.

Nama Daerah : Limeng, selimeng, thlimeng (Aceh); balimbieng (Minangkabau); belimbing asam (Melayu); Balimbing (Lampung); calincing, balingbing (Sunda); belimbing wuluh (Jawa); bhalingbhing bulu (Madura); blimbing buloh (Bali).  
 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*.

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, C.G.G.J. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 07 Juli 2022

PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
 DINAS KESEHATAN  
 UPT LABORATORIUM HERBAL  
 MATERI MEDICA BATU  
 ACHMAD ABRUR, SKM, M.Kes.  
 PEMBINA  
 NIP. 19680203 199203 1 004

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



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU**



Jl. Lahor 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 : *Piper betle* 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:*P. betle*.
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

KEP. PROVINSI JAWA TIMUR  
DINAS KESEHATAN  
UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU

**ACHMAD MAHRUR, SKM, M.Kes.**  
Pembina  
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Penimbangan Belimbing Wuluh



Penimbangan Daun Sirih



Pemotongan Daun Sirih



Pemotongan Belimbing Wuluh



Proses Hidroekstraksi



Proses Hidroekstraksi



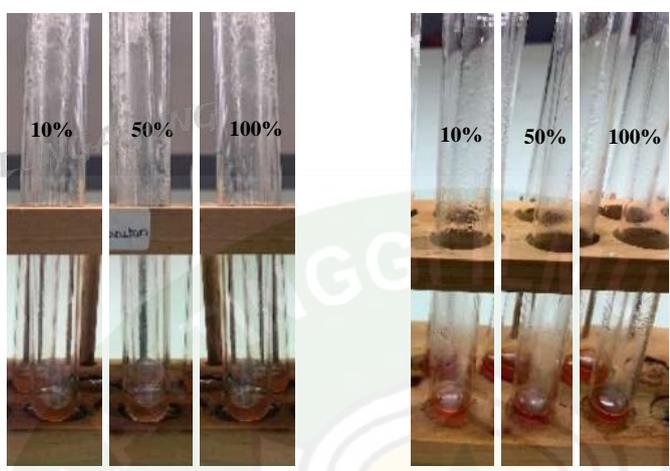
Proses Penyaringan



Pembuatan Variasi Konsentrasi

### Hasil Skrining Ekstrak

### Uji Skrining Fitokimia Flavonoid



(40°C)

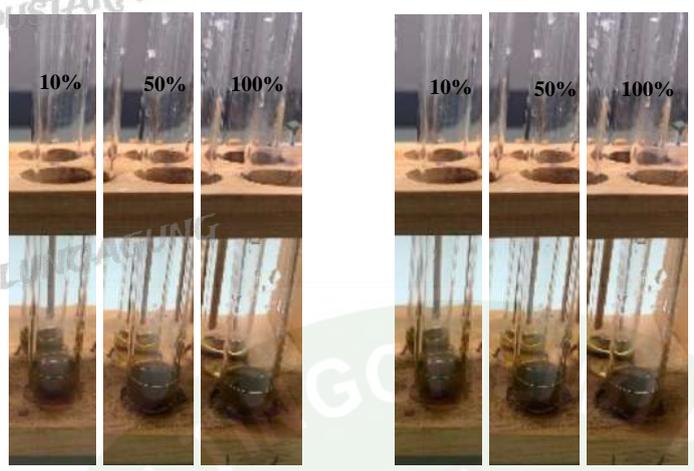
(50°C)



(60°C)

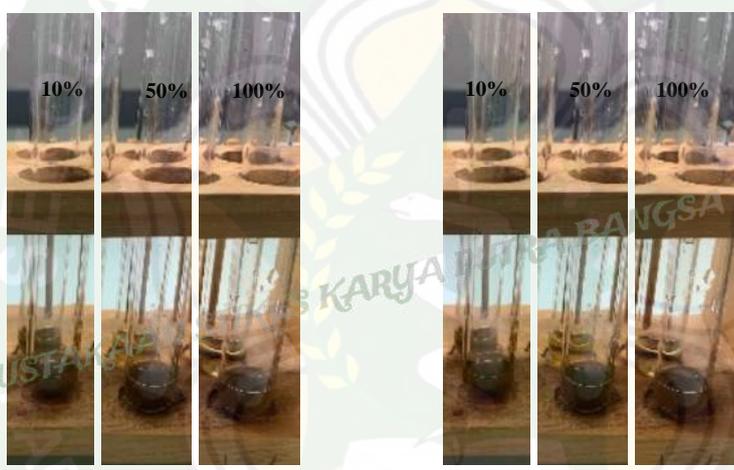
(90°C)

### Uji Skrining Fitokimia Tanin



(40°C)

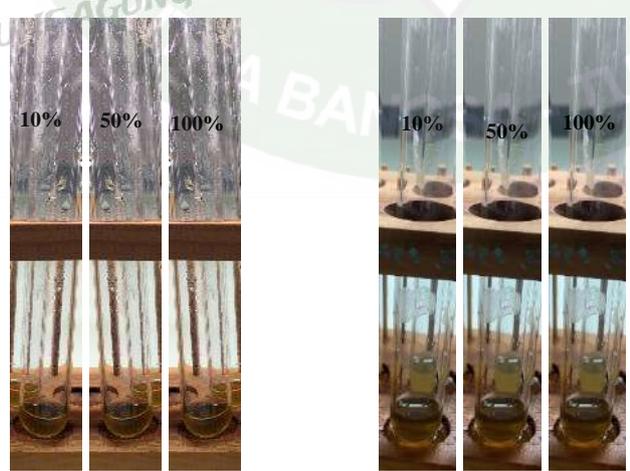
(50°C)



(60°C)

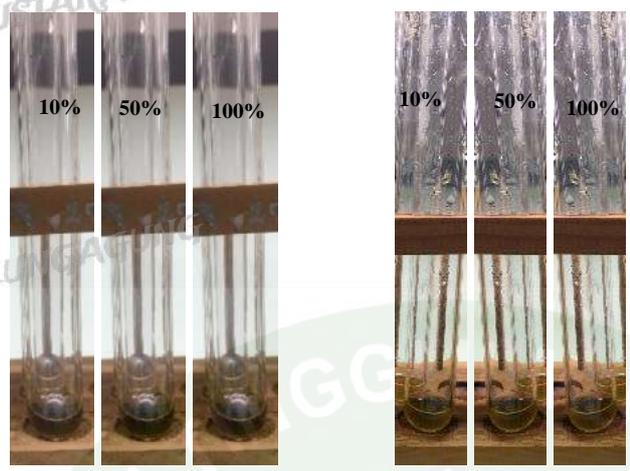
(90°C)

### Uji Skrining Fitokimia Alkaloid



(40°C)

(50°C)



(60°C)

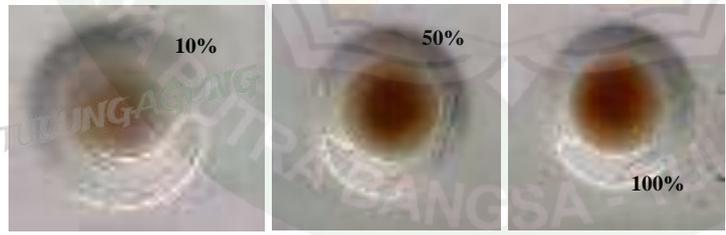
(90°C)

### Uji Skrining Fitokimia Terpenoid

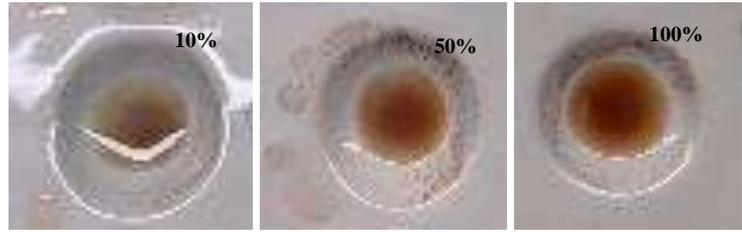
(40°C)



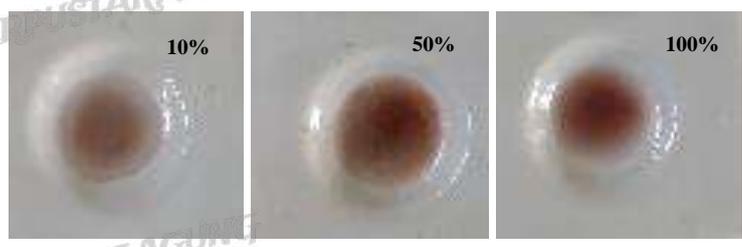
(50°C)



(60°C)



(90°C)



Uji Skrining Fitokimia Saponin



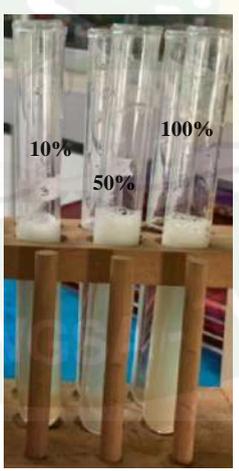
(40°C)



(50°C)



(60°C)



(90°C)

### Lampiran 4. Surat Pernyataan Penanganan Mikroorganism

#### SURAT PERNYATAAN PENANGANAN MIKROORGANISME

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : Putri Indah Pratiwi

ALAMAT : Ds. Gebang, Kec. Pakel, 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

SAKSI\*\*  
Kaprodik Stikes Karya Putra Bangsa

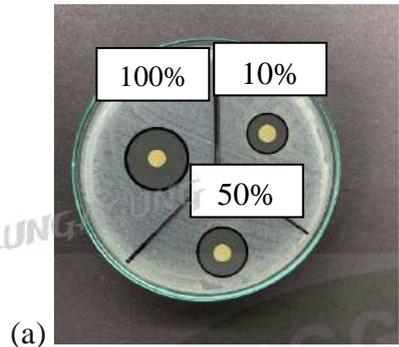
(Putri Indah Pratiwi)

(apt. Dara Prandya Tilarso, M.Farm.)

Keterangan :

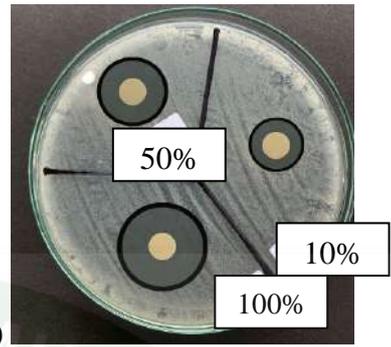
- Saksi adalah dosen pembimbing atau atasan langsung.
- Tanda tangan harus bersetempel resmi

### Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*



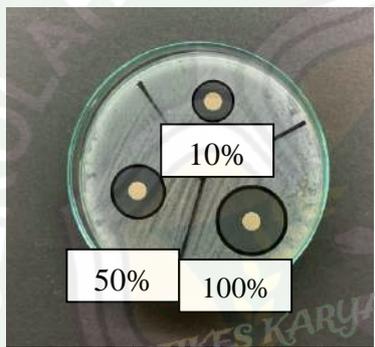
(a)

Suhu 40°



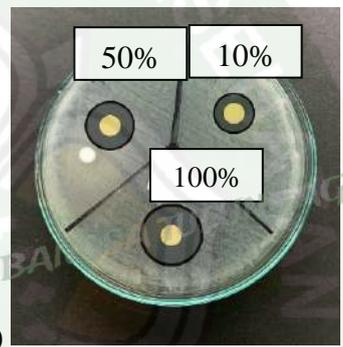
(b)

Suhu 50°



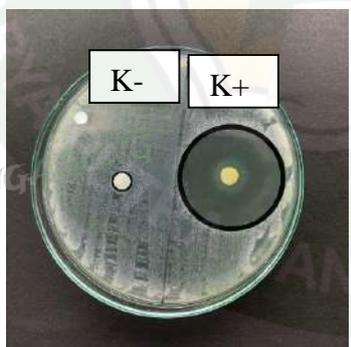
(c)

Suhu 60°



(d)

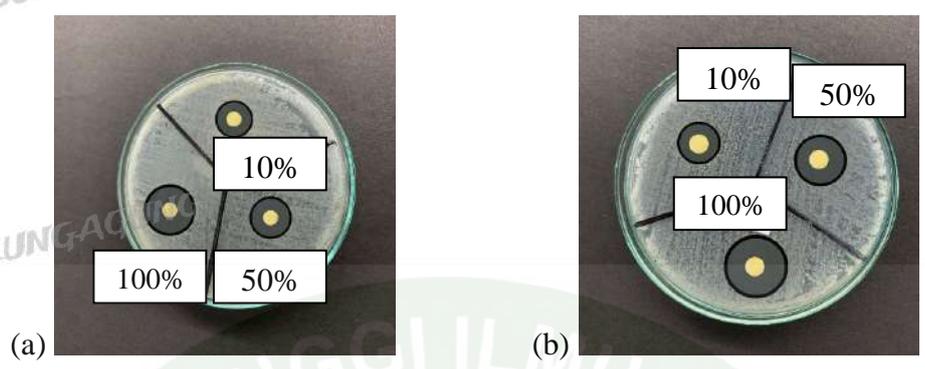
Suhu 90°



(e)

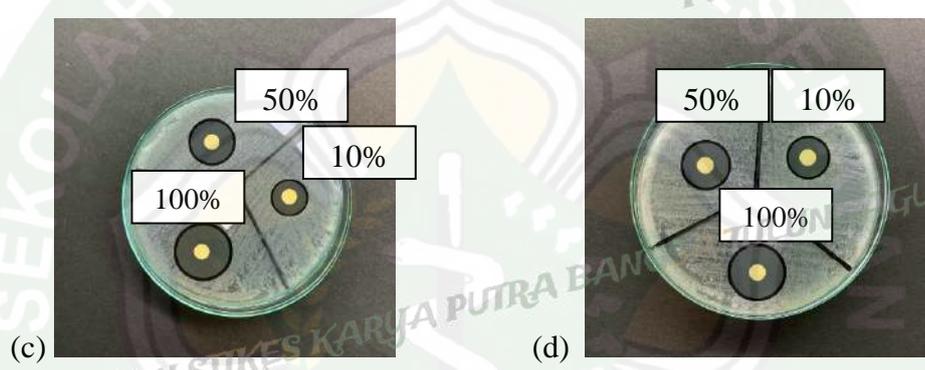
K- dan K+

### Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*



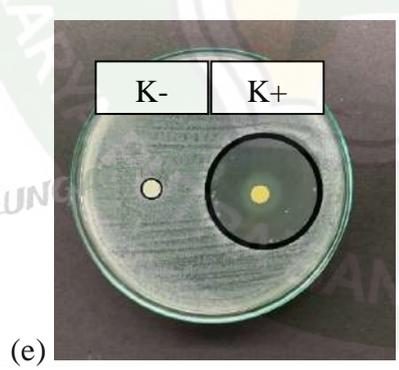
Suhu 40°

Suhu 50°



Suhu 60°

Suhu 90°



K- dan K+

## Lampiran 5. Perhitungan Bahan

### 1. Perhitungan konsentrasi

#### a. Konsentrasi 10 %

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

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

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

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

#### b. Konsentrasi 50%

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

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

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

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

#### c. Konsentrasi 100%

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

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

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

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

### 2. Perhitungan media

#### a. Perhitungan media *Nutrient Broth* (NB)

$$\begin{aligned} \text{Bobot NB} &= \frac{BM}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{8}{1000} \times 40 \text{ mL} = 0,32 \text{ gr} \end{aligned}$$

b. Perhitungan media *Nutrient Agar* (NA)

$$\begin{aligned} \text{Bobot NB} &= \frac{BM}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 50 \text{ mL} = 1 \text{ gr} \end{aligned}$$

**3. Perhitungan kloramfenikol Sebagai Kontrol Positif**

0,01 mg/10 mL

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

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

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

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

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

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

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

Diketahui :

$$M1 = 11,68 \text{ mg/mL}$$

$$M2 = 0,01 \text{ mg}$$

$$V2 = 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = ?$$

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

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

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

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



## Lampiran 6 Analisis Hasil

### 1. Uji Normalitas *Staphylococcus aureus*

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Zona Hambat
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	19.1527
	Std. Deviation	11.40932
Most Extreme Differences	Absolute	.169
	Positive	.153
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.654
Asymp. Sig. (2-tailed)		.786

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### 2. Uji Normalitas *Escherichia coli*

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter Zona Hambat	Variasi Konsentrasi
N		15	15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	13.9173	3.00
	Std. Deviation	8.50916	1.464
Most Extreme Differences	Absolute	.256	.153
	Positive	.157	.153
	Negative	-.256	-.153
Kolmogorov-Smirnov Z		.991	.592
Asymp. Sig. (2-tailed)		.280	.875

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	4	10	.236

4. Uji Homogenitas *Escherichia coli***Test of Homogeneity of Variances**

Diameter Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.426	4	10	.295

5. ANOVA *Staphylococcus aureus***ANOVA**

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1820.785	4	455.196	2789.535	.000
Within Groups	1.632	10	.163		
Total	1822.417	14			

6. ANOVA *Escherichia coli***ANOVA**

Diameter Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1013.515	4	253.379	15312.985	.000
Within Groups	.165	10	.017		
Total	1013.681	14			

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 50%	-5.65667*	.32983	.000	-6.3916	-4.9218
		Konsentrasi 100%	-10.10000*	.32983	.000	-10.8349	-9.3651
		Kontrol Positif	-16.63333*	.32983	.000	-17.3682	-15.8984
		Kontrol Negatif	15.84333*	.32983	.000	15.1084	16.5782
	Konsentrasi 50%	Konsentrasi 10%	5.65667*	.32983	.000	4.9218	6.3916
		Konsentrasi 100%	-4.44333*	.32983	.000	-5.1782	-3.7084
		Kontrol Positif	-10.97667*	.32983	.000	-11.7116	-10.2418
		Kontrol Negatif	21.50000*	.32983	.000	20.7651	22.2349
	Konsentrasi 100%	Konsentrasi 10%	10.10000*	.32983	.000	9.3651	10.8349
		Konsentrasi 50%	4.44333*	.32983	.000	3.7084	5.1782
		Kontrol Positif	-6.53333*	.32983	.000	-7.2682	-5.7984
		Kontrol Negatif	25.94333*	.32983	.000	25.2084	26.6782
	Kontrol Positif	Konsentrasi 10%	16.63333*	.32983	.000	15.8984	17.3682
		Konsentrasi 50%	10.97667*	.32983	.000	10.2418	11.7116
		Konsentrasi 100%	6.53333*	.32983	.000	5.7984	7.2682
		Kontrol Negatif	32.47667*	.32983	.000	31.7418	33.2116
	Kontrol Negatif	Konsentrasi 10%	-15.84333*	.32983	.000	-16.5782	-15.1084
		Konsentrasi 50%	-21.50000*	.32983	.000	-22.2349	-20.7651

Konsentrasi 100%	-25.94333*	.32983	.000	-26.6782	-25.2084
Kontrol Positif	-32.47667*	.32983	.000	-33.2116	-31.7418

\*. 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 50%	-7.96667*	.10503	.000	-8.2007	-7.7326
		Konsentrasi 100%	-10.85667*	.10503	.000	-11.0907	-10.6226
		Kontrol Positif	-12.85667*	.10503	.000	-13.0907	-12.6226
		Kontrol Negatif	9.47667*	.10503	.000	9.2426	9.7107
	Konsentrasi 50%	Konsentrasi 10%	7.96667*	.10503	.000	7.7326	8.2007
		Konsentrasi 100%	-2.89000*	.10503	.000	-3.1240	-2.6560
		Kontrol Positif	-4.89000*	.10503	.000	-5.1240	-4.6560
		Kontrol Negatif	17.44333*	.10503	.000	17.2093	17.6774
	Konsentrasi 100%	Konsentrasi 10%	10.85667*	.10503	.000	10.6226	11.0907
		Konsentrasi 50%	2.89000*	.10503	.000	2.6560	3.1240
		Kontrol Positif	-2.00000*	.10503	.000	-2.2340	-1.7660
		Kontrol Negatif	20.33333*	.10503	.000	20.0993	20.5674
	Kontrol Positif	Konsentrasi 10%	12.85667*	.10503	.000	12.6226	13.0907
		Konsentrasi 50%	4.89000*	.10503	.000	4.6560	5.1240
		Konsentrasi 100%	2.00000*	.10503	.000	1.7660	2.2340
		Kontrol Negatif	22.33333*	.10503	.000	22.0993	22.5674
Kontrol Negatif	Konsentrasi 10%	-9.47667*	.10503	.000	-9.7107	-9.2426	

Konsentrasi 50%	-17.44333*	.10503	.000	-17.6774	-17.2093
Konsentrasi 100%	-20.33333*	.10503	.000	-20.5674	-20.0993
Kontrol Positif	-22.33333*	.10503	.000	-22.5674	-22.0993

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

#### 9. Uji Duncan *Staphylococcus aureus*

##### Diameter Zona Hambat

	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	.0000				
	Konsentrasi 10%	3		15.8433			
	Konsentrasi 50%	3			21.5000		
	Konsentrasi 100%	3				25.9433	
	Kontrol Positif	3					32.4767
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

#### 10. Uji Duncan *Escherichia coli*

##### Diameter Zona Hambat

	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	.0000				
	Konsentrasi 10%	3		9.4767			
	Konsentrasi 50%	3			17.4433		
	Konsentrasi 100%	3				20.3333	
	Kontrol Positif	3					22.3333
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.