

**PERBEDAAN METODE KUKUS DAN REBUS PADA VARIASI  
KOMBINASI EKSTRAK (*Averrhoa bilimbi L*) DENGAN (*Piper  
betle*) TERHADAP *S.Aureus* DAN *E.Coli***

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**WINDU HANDARU**

**1913206046**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
STIKES KARYA PUTRA BANGSA  
TULUNGAGUNG  
JULI 2023**

**PERBEDAAN METODE KUKUS DAN REBUS PADA VARIASI  
KOMBINASI EKSTRAK (*Averrhoa bilimbi L*) DENGAN (*Piper  
betle*) TERHADAP *S.Aureus* DAN *E.Coli***

**SKRIPSI**

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

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh :

**WINDU HANDARU**

**1913206046**

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

**JULI 2023**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**SKRIPSI**

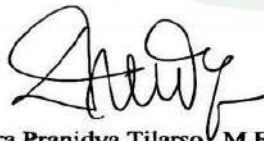
**PERBEDAAN METODE KUKUS DAN REBUS PADA VARIASI  
KOMBINASI EKSTRAK (*Averrhoa bilimbi L*) DENGAN (*Piper  
betle*) TERHADAP *S.Aureus* DAN *E.Coli***

Yang diajukan oleh :

**WINDU HANDARU**  
1913206046


Telah disetujui oleh :

**Pembimbing Utama**



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

**Pembimbing Pendamping**



**Afdatul Muadifah, M.Si**  
NIDN. 07 080391 02

**HALAMAN PENGESAHAN**

**SKRIPSI**

**PERBEDAAN METODE KUKUS DAN REBUS PADA VARIASI  
KOMBINASI EKSTRAK (*Averrhoa bilimbi L*) DENGAN (*Piper  
betle*) TERHADAP *S.Aureus* DAN *E.Coli***

Oleh :

WINDU HANDARU

1913206046

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji

Proposal

Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

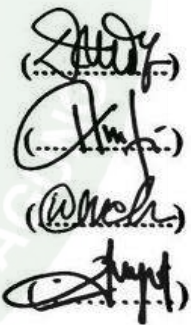
Tanggal : .....

Ketua Penguji : apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm.

Anggota Penguji : 1. Afidatul Muadifah, M.Si

: 2. apt. Amalia Eka Putri, M.Farm.

: 3. Rahma Diyan Martha S.Si.,M.Sc.



Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

  
apt. Arif Santoso, M. Farm.

## PERNYATAAN

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

Tulungagung, Juli 2023

Penulis



Windu Handaru

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT “Sang pencipta alam semesta pemilik semua ilmu pengetahuan sebagai tanda pengabdianku dalam mempelajari ayat-ayat Mu” Atas segala kemudahan yang telah Engkau berikan, sehingga berkat izin dan Rahmat-Mu satu amanah-Mu mampu hamba selesaikan penyusunan proposal penelitian ini yang berjudul **“PERBEDAAN METODE KUKUS DAN REBUS PADA VARIASI KOMBINASI EKSTRAK (*Averrhoa bilimbi* L) DENGAN (*Piper betle*) TERHADAP *S.Aureus* DAN *E.Coli*”** ini dengan lancar tanpa suatu hambatan apapun walaupun masih banyak kekurangan.

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

1. Bapak apt. Arif Santoso., M.Farm selaku Ketua STIKes Karya Putra Bangsa yang terus memberikan motivasi dan semangat kepada penulis agar penulis dapat berkembang menjadi lebih baik lagi kedepannya.
2. Ibu apt. Dara Pranidya Tilarso., M.Farm selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi.
3. Ibu Afidatul Muadifah., M.Si selaku pembimbing II yang telah memberikan saran dan masukan selama penyusunan skripsi.
4. Ibu apt. Amalia Eka Putri., M.Farm selaku penguji 1 yang telah memberikan saran dan masukan selama penyusunan skripsi.
5. Ibu Rahma Diyan Martha S.Si., M.Sc selaku penguji 2 yang telah memberikan saran dan masukan selama penyusunan skripsi.
6. Kedua orang tua yang telah memberikan semuanya, doa, kasih sayang, cinta, pengorbanan, dukungan, dan kebahagiaan yang begitu indah dalam hidup penulis. Semoga Allah selalu melimpahkan berjuta kenikmatan yang tiada henti kepada Ayahanda dan Ibunda. I Love you Both !

7. Terimakasih pahitnya masalah dan masa yang akan datang, akan terus saya jadikan sebagai bahan bakar untuk melaju lebih cepat kedepan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak lepas dari kesalahan, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang kefarmasian.

Tulungagung, Juli 2023

Penulis



Windu Handaru

# PERBEDAAN METODE KUKUS DAN REBUS PADA VARIASI KOMBINASI EKSTRAK (*Averrhoa bilimbi L*) DENGAN (*Piper betle*) TERHADAP *S.Aureus* DAN *E.Coli*

Windu Handaru

Prodi S1 Farmasi

## INTISARI

Tanaman buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) merupakan tanaman yang digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan alkaloid yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri metode kukus dan rebus pada variasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*. Penelitian ini dilakukan dengan metode hidroekstraksi suhu 50°C dan 90°C dan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram.. Hasil penelitian ini menunjukkan metode rebus memiliki zona hambat yang lebih luas dibandingkan dengan metode kukus. Penyebabnya pada saat proses ekstraksi suhu kukus yang digunakan terlalu tinggi sehingga merusak kandungan senyawa pada sampel. Hasil pengujian pada metode rebus terhadap bakteri *S.Aureus* nilai zona hambat tertinggi yang dihasilkan adalah 14,2 mm (kuat) pada konsentrasi 100%. Pengujian terhadap bakteri *E.Coli* nilai zona hambat yang dihasilkan sebesar 11,4 mm (kuat) pada konsentrasi 100%. Sedangkan pada metode kukus pengujian pada bakteri *S.Aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 11,4 mm (kuat), dan pada pengujian terhadap bakteri *E.Coli* menghasilkan zona hambat sebesar 9,5 mm (sedang).

**Kata kunci** : Buah Belimbing Wuluh, Sirih Hijau, *S.Aureus*, *Eschericia coli*, Hidroekstraksi.



**DIFFERENCES IN STEAMING AND BOILING METHODS IN  
COMBINATIONS OF VARIATIONS OF VARIATION OF  
(*Averrhoa bilimbi L*) EXTRACT WITH (*Piper betle*)  
AGAINST *S.Aureus* AND *E.Coli*.**

**Windu Handaru**

**Bachelor of Pharmacy**

**ABSTRACT**

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) and betel leaf (*Piper betle*) are plants used by Indonesian people as traditional medicines because they contain flavonoids, saponins, tannins, terpenoids and alkaloids which can be used as antibacterials. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of the steamed and boiled method on various combinations of starfruit and betel leaf extracts against *S.aureus* and *E.coli* bacteria. This research was conducted using the hydroextraction method at 50°C and 90°C and testing the antibacterial activity using the disc diffusion method. The results of this study indicate that the boiled method has a wider inhibition zone than the steamed method. The reason is that during the extraction process the steam temperature used is too high so that it damages the compound content in the sample. The results of the test on the bacterial boil method against *S.Aureus* the highest inhibition zone value produced was 14.2 mm (strong) at a concentration of 100%. Tests on *E.Coli* bacteria resulted in an inhibition zone value of 11.4 mm (strong) at a concentration of 100%. Whereas the steam test method on *S.Aureus* bacteria produced an inhibition zone of 11.4 mm (strong), and the test on *E.Coli* bacteria produced an inhibition zone of 9.5 mm (moderate).

**Kata kunci :** *Averrhoa bilimbi L*, *Piper betle*, *S.Aureus*, *Eschericia coli*, Hydro extraction.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
INTISARI .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR PERSAMAAN.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat penelitian .....	4
1.5 Batasan masalah .....	4
1.6 Relevansi Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Uraian Tanaman Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi L.</i> ).....	6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Belimbing Wuluh.....	6
2.1.2 Kandungan Kimia .....	6
2.1.3 Khasiat Belimbing Wuluh.....	7
2.1.4 Morfologi Tanaman Belimbing wuluh .....	7
2.1.5 Nama Daerah.....	7
2.1.6 Fitokimia Belimbing Wuluh .....	7
2.2 Uraian Tanaman Sirih Hijau ( <i>Piper Betle</i> ).....	8

2.2.1	Klasifikasi Tanaman Sirih Hijau .....	8
2.2.2	Kandungan Kimia .....	8
2.2.3	Khasiat Daun Sirih Hijau .....	9
2.2.4	Morfologi Tanaman Sirih Hijau .....	9
2.2.5	Nama Daerah .....	9
2.2.6	Fitokimia Daun Sirih Hijau .....	9
2.3	Skrining Fitokimia .....	10
2.4	Ekstraksi .....	13
2.4.1	Definisi Ekstraksi .....	13
2.4.2	Hidroekstraksi .....	13
2.5	Bakteri .....	13
2.5.1	Bakteri <i>S.Aureus</i> .....	14
2.6.1	Bakteri <i>E.Coli</i> .....	15
2.6	Pelarut .....	16
2.6.1	Aquadest .....	17
2.7	Kloramfenikol .....	17
2.8	Anti Bakteri .....	17
2.9	Uji Aktivitas Anti Bakteri .....	18
2.9.1	Metode Difusi .....	18
2.9.2	Metode Pengenceran .....	19
2.10	Hipotesis .....	19
<b>BAB III METODOLOGI .....</b>		<b>20</b>
3.1	Alat .....	20
3.2	Bahan .....	20
3.3	Populasi Penelitian .....	20
3.4	Sampel penelitian .....	20

3.5 Variabel Penelitian .....	20
3.5.1 Variabel Bebas .....	21
3.5.2 Variabel Terikat .....	21
3.6 Jalannya Penelitian .....	21
3.6.1 Determinasi Tanaman .....	21
3.6.2 Pembuatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS) .....	21
3.6.3 Metode Kukus .....	22
3.6.4 Metode Rebus .....	22
3.7 Skrining Fitokimia.....	22
3.7.1 Flavonoid .....	22
3.7.2 Tanin .....	22
3.7.3 Saponin.....	23
3.7.4 Terpenoid .....	23
3.8 Uji Aktifitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Hijau.....	23
3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	23
3.8.2 Pembuatan Larutan Kontrol Uji .....	24
3.8.3 Pembuatan Media <i>Nutrient Broth</i> (NB) .....	25
3.8.4 Pembuatan Media <i>Nutrient agar</i> (NA) .....	25
3.8.5 Peremajaan Bakteri .....	25
3.8.6 Pewarnaan Gram .....	26
3.8.7 Inokulasi Bakteri .....	26
3.8.8 Pengukuran Zona Hambat.....	26
3.9 Analisis Data .....	27
3.9.1 Uji Normalitas Data .....	27

3.9.2 Uji Homogenitas .....	28
3.9.3 Uji <i>Post Hoc</i> LSD .....	28
3.10 Kerangka Penelitian .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>20</b>
4.1 Determinasi Tanaman.....	30
4.2 Pembuatan kombinasi ekstrak BWDS.....	30
4.3 Skrining Fitokimia.....	31
4.4 Identifikasi Bakteri .....	37
4.5 Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrask BWDS .....	38
4.6 Analisis data .....	45
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>47</b>
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>55</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Kategori Diameter Zona Hambat .....	18
<b>Tabel 4.1</b> Hasil Uji Skrining Fitokimia BWDS .....	31
<b>Tabel 4.2</b> Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>S.Aureus</i> ATTC 25923 Metode Kukus Suhu 90°C .....	39
<b>Tabel 4.3</b> Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>E.Coli</i> ATTC 25922 Metode Kukus Suhu 90°C .....	40
<b>Tabel 4.4</b> Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>S.Aureus</i> ATTC 25923 Metode Kukus Suhu 50°C .....	42
<b>Tabel 4.5</b> Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri <i>E.Coli</i> ATTC 25922 Metode Kukus Suhu 50°C .....	43

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa belimbi L</i> ).....	6
<b>Gambar 2.2</b> Daun Sirih ( <i>Piper betle</i> ).....	8
<b>Gambar 2.3</b> Struktur Kimia Flavonoid.....	10
<b>Gambar 2.4</b> Struktur Kimia Tanin.....	11
<b>Gambar 2.5</b> Struktur Kimia Saponin.....	11
<b>Gambar 2.6</b> Struktur Kimia Terpenoid.....	12
<b>Gambar 2.7</b> Struktur Kimia Alakloid.....	12
<b>Gambar 2.8</b> Bakteri <i>S.Aureus</i> .....	13
<b>Gambar 2.9</b> Bakteri <i>E.Coli</i> .....	15
<b>Gambar 4.1</b> Uji Flavonoid Ekstrak BWDS.....	32
<b>Gambar 4.2</b> Uji Tanin Ekstrak BWDS.....	33
<b>Gambar 4.3</b> Uji Saponin Ekstrak BWDS.....	34
<b>Gambar 4.4</b> Uji Terpenoid Ekstrak BWDS.....	35
<b>Gambar 4.5</b> Uji Alakloid Ekstrak BWDS.....	36
<b>Gambar 4.6</b> Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>S.Aureus</i> & <i>E.Coli</i> .....	38
<b>Gambar 4.7</b> Uji Aktivitas Antibakteri <i>S.Aureus</i> ATCC 25923 Kukus.....	40
<b>Gambar 4.8</b> Uji Aktivitas Antibakteri <i>E.Coli</i> ATCC 25922 Kukus.....	41
<b>Gambar 4.9</b> Uji Aktivitas Antibakteri <i>S.Aureus</i> ATCC 25923 Rebus.....	43
<b>Gambar 4.10</b> Uji Aktivitas Antibakteri <i>E.Coli</i> ATCC 25922 Rebus.....	44

**DAFTAR PERSAMAAN**

**Persamaan 3.1.....27**





## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman merupakan suatu jenis organisme tumbuhan yang umumnya hidup di tanah. Selain digunakan sebagai bahan pangan tanaman juga dapat digunakan sebagai obat tradisional sebagai pengobatan semua jenis penyakit (Maryam *et al.*, 2015). Indonesia merupakan negara yang banyak dijumpai tanaman-tanaman obat tradisional dan termasuk salah satu negara terbesar dalam hal pemanfaatan tanaman obat tradisional di Asia yang bersanding dengan negara lain seperti Cina dan India (Lestari *et al.*, 2017). Sebenarnya sudah banyak yang memanfaatkan tanaman obat tradisional sejak ribuan tahun yang lalu tetapi, baik dari pengolahan, kemudian tahapan penggunaannya tidak terdokumentasikan dengan baik. Sampai saat ini, tanaman obat di Indonesia tercatat ada 2000 lebih jenis tanaman. Namun, tanaman yang dimanfaatkan untuk obat tradisional dan yang sudah melalui penelitian secara ilmiah masih tercatat sekitar 300 jenis tanaman (Lestari *et al.*, 2017). Penggunaan tanaman obat tradisional sebagai bahan obat tradisional perlu dilakukan penelitian secara ilmiah. Tujuannya untuk mengetahui manfaat yang terdapat pada tanaman obat tradisional tersebut. Tanaman obat tradisional yang dapat digunakan sebagai antibakteri antara lain adalah belimbing wuluh dan daun sirih hijau (Harefa, 2020).

Belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) mempunyai manfaat untuk obat batuk, obat pegal linu, gondongan, jerawat, sariawan, rematik, panu, darah tinggi, dan sakit gigi. Dari zaman dulu Belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) digunakan oleh nenek moyang sebagai pengobatan tradisional secara turun-temurun. Kandungan yang terdapat pada belimbing wuluh diantaranya alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, alkaloid. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri (Afifi *et al.*, 2018).

Daun sirih (*Piper betle*) merupakan tanaman yang mengandung banyak sekali manfaat dan banyak dipakai sebagai pengobatan herbal seperti menghilangkan bau badan, obat pembersih mata, mimisan, sariawan, pendarahan gusi, batuk bronchitis, keputihan dan kehalusan kulit (Manarisip *et al.*, 2020).

Senyawa yang terdapat pada daun sirih (*Piper betle*) diantaranya saponin, tanin, dan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri (Fathoni *et al.*, 2019).

Sampai saat ini kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri masih relatif cukup banyak dan tentunya menjadi momok permasalahan di beberapa negara bahkan di seluruh dunia. Begitu juga dengan bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*. Bakteri *S.Aureus* merupakan bakteri yang sering menimbulkan infeksi pada makhluk hidup tak terkecuali pada manusia terutama pada permukaan kulit. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif (Husna, 2018). Sedangkan bakteri *E.Coli* adalah bakteri gram negatif yang menyebabkan penyakit infeksi kedua setelah *Streptococcus*. Salah satunya diare adalah penyakit yang juga disebabkan oleh bakteri *E.Coli* (Rait *et al.*, 2021). Pada bagian tubuh manusia terutama bagian tangan adalah bagian yang seringkali menjadi tempat bakteri *S.Aureus* (53,85%) *Staphylococcus epidermidis* (34,62%), *E.Coli* (7,69%) dan *Bacillus sp.* (3,84%) (L *et al.*, 2015). Pertumbuhan bakteri dapat dicegah menggunakan antibiotik. Sudah banyak jenis antibiotik baik dari bahan sintetik. Namun, seiring perkembangan zaman banyak sekali bermunculan mikroba yang resisten terhadap antibiotik berbahan sintetik, oleh sebab itu penggunaan antibiotik dari bahan alam mulai digunakan (Dwicahyani *et al.*, 2018).

Dalam penelitian ini memanfaatkan daun sirih dan buah belimbing wuluh sebagai antibakteri dari bahan alam, sebelum kedua tanaman ini dapat digunakan sebagai antibakteri harus melalui beberapa tahapan seperti tahapan ekstraksi terlebih dahulu. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan cara pengukusan dan rebusan (Fuadi, 2014). Teknik ekstraksi secara maserasi, soxhlet maupun hidrodistilasi menghasilkan antimikroba yang sangat efektif, namun teknik ini memerlukan pelarut yang sangat mahal, sehingga diperlukan teknik hidrokstraksi yang lebih ekonomis untuk menghemat biaya produksi dan mempermudah pengaplikasian di masyarakat (Rahayu, *et al* 2016). Hidroekstraksi merupakan metode ekstraksi alternatif yang bisa diterapkan seluruh kalangan masyarakat karena caranya yang sangat mudah dan efisien. Metode ini cukup menggunakan air sebagai katalis dan tempratur sebagai tekanan dengan cara pengukusan dan rebusan. Selain itu metode

Hidroekstraksi mampu menarik senyawa yang bersifat polar, dimana senyawa yang bersifat polar memiliki aktivitas antibakteri. (Helda *et al.*, 2018).

Kombinasi ekstrak bertujuan agar ekstrak yang digunakan memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya (Suriawati *et al.*, 2018). Sedangkan tujuan dilakukannya pengukusan dan rebusan adalah untuk membunuh sebagian mikroorganisme yang terdapat pada simplisia. Sehingga hasil ekstraksi yang diperoleh dari metode kukus dan rebus adalah ekstraksi yang murni dari simplisia, dan diharapkan dapat digunakan sebagai antibakteri *S.Aureus* & *E.Coli* tanpa dipengaruhi oleh jenis mikroba atau mikroorganisme yang tidak diinginkan (Kelompok *et al.*, 2022).

Penelitian yang dilakukan (Tilarso *et al.*, 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 metode rebus di suhu 50°C terhadap bakteri *S.Aureus* memiliki zona hambat 19,75 mm (merupakan respon pertumbuhan bakteri yang kuat) sedangkan terhadap bakteri *Eschericia Coli* memiliki zona hambat 11,75 mm (merupakan pertumbuhan bakteri yang sedang). Pada metode kukus di suhu 90°C terhadap bakteri *S.Aureus* memiliki zona hambat 14,5 mm (merupakan respon pertumbuhan bakteri yang kuat), sedangkan terhadap bakteri *E.Coli* memiliki zona hambat 8 mm (merupakan pertumbuhan bakteri yang sedang).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti merasa perlu untuk mengetahui apa perbedaan metode kukus dan rebus pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*. Kemudian peneliti ingin mengetahui seberapa efektif variasi kombinasi ekstrak Belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*. Diharapkan dari hasil penelitian ini masyarakat juga dapat menggunakan kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) sebagai alternatif obat terhadap infeksi penyakit yang di sebabkan oleh bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*. Mengingat dua jenis tanaman diatas cukup mudah untuk diperoleh.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana aktifitas antibakteri dengan metode kukus pada variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* ?
- 1.2.2 Bagaimana aktifitas antibakteri dengan metode rebus pada variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui bagaimana aktifitas antibakteri dengan metode kukus pada variasi kombinasi ekstrak Belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* ?
- 1.3.2 Mengetahui bagaimana aktifitas antibakteri dengan metode rebus pada variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dengan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* ?

## 1.4 Manfaat penelitian

### 1.4.1 Bagi Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait perbedaan metode kukus dan rebus pada kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*.

### 1.4.2 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan memberikan pengetahuan terkait ekstrak rebusan belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*, sehingga diharapkan masyarakat mampu menjadikannya sebagai obat alternatif.

## 1.5 Batasan masalah

- 1.5.1 Sampel yang digunakan adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang diperoleh di kawasan Bendiljati Wetan Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung.
- 1.5.2 Metode ekstraksi menggunakan hidroekstraksi, kukus pada suhu 90°C dan rebus pada suhu 50°C.

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

1.5.4 Identifikasi senyawa kimia menggunakan skrining fitokimia.

## 1.6 Relevansi Penelitian

Penelitian ini memiliki relevansi dengan penelitian sebelumnya yaitu :

1.6.1 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 *S.Aureus* memiliki aktivitas optimum pada suhu 50° dengan diameter 19,75 mm, merupakan respon pertumbuhan bakteri yang kuat dan 11,75 mm terhadap *E.Coli* merupakan respon pertumbuhan bakteri yang sedang.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

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

##### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Belimbing Wuluh

Klasifikasi Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

(Suryowinoto & Van Steenis, 2008).

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Oxalidaceae
Marga	: Averrhoa
Jenis	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.



**Gambar 2.1** Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Insan *et al.*, 2019).

##### 2.1.2 Kandungan Kimia

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan belimbing wuluh ialah tanin, saponin, flavonoid. Senyawa saponin dapat digunakan sebagai antimikroba, dengan cara merusak membrane sitoplasma kemudian membunuh sel. Senyawa flavonoid bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri kemudian merusak membrane sel yang ada sehingga tidak bisa diperbaiki lagi. Senyawa alkaloid bekerja dengan cara menaikkan dan menurunkan tekanan darah, serta melawan infeksi mikroba. Sedangkan senyawa tanin bekerja dengan cara

mengikat kemudian mengendapkan protein. Oleh sebab itu, tanin dapat digunakan sebagai pengobatan diare, ambeien, meredakan peradangan (Insan *et al.*, 2019).

### **2.1.3 Khasiat Belimbing Wuluh**

Belimbing wuluh berkhasiat sebagai antimikroba karena zat asam yang terkandung dalam belimbing wuluh dapat menyebabkan metabolisme bakteri terganggu (Pakaya *et al.*, 2014).

### **2.1.4 Morfologi Tanaman Belimbing wuluh**

Belimbing wuluh tumbuh dengan tinggi pohon 5-10 m. Memiliki batang bercabang-cabang, tegak, permukaan yang kasar, banyaknya tonjolan, memiliki warna hijau kotor. Daun : Menyirip, majemuk, bulat telur, ujung hijau muda, hijau, anak daun 25-45 helai. Buah : Buni kehijauan. Akar : Tunggang, memiliki warna coklat kehitaman. Bunga : Bentuk malai, majemuk, pada tonjolan batang dan cabang, menggantung, Panjang 5-20 cm, ukuran kelopak  $\pm$  6 mm, memiliki warna merah, bentuk lanset, ungu (Suryowinoto & Van Steenis, 2008).

### **2.1.5 Nama Daerah**

Tanaman belimbing wuluh banyak dikenal dengan beberapa nama daerah diantaranya adalah : Thlimeng, limeng, selimeng (Aceh); belimbing asam (Melayu); balimbieng (Minangkabau); balingbing, calincing (Sunda); Balimbing (Lampung); belimbing wuluh (Jawa); blimbing buloh (Bali); bhalingbing bulu (Madura) (Suryowinoto & Van Steenis, 2008).

### **2.1.6 Fitokimia Belimbing Wuluh**

Senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan belimbing wuluh ialah tanin, saponin, flavonoid. Banyak senyawa metabolit sekunder yang dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis, seperti Tanin memiliki kandungan antioksidan, antiinflamasi, antimikroba sehingga banyak perhatian di bidang nutrisi, Kesehatan, serta obat-obatan lainnya. Alkaloid memiliki aktivitas sebagai antikanker dan antivirus. Flavonoid masuk dalam kelompok polifenol, merupakan senyawa yang dapat merangkap radikal bebas, yang juga berperan sebagai super antioksidan dan mempunyai aktivitas antiinflamasi, mencegah kerusakan oksidatif sel dan memiliki efek antikanker yang sangat kuat. Sedangkan saponin memiliki efek antitusif dan ekspektoran yang dapat meringankan batuk. Selain memiliki efek

antitusif dan ekspektoran, saponin juga memiliki aktivitas antiinflamasi dibuktikan dengan adanya penghambatan pelepasan zat-zat proinflamasi yang di stimulasi oleh lipopolisakarida (Hasim *et al.*, 2019).

## 2.2 Uraian Tanaman Sirih Hijau (*Piper Betle*)

### 2.2.1 Klasifikasi Tanaman Sirih Hijau

Klasifikasi Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle L.*) (Samirana *et al.*, 2017).

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Virindiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivision	: Embryophyta
Division	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Magnolianaes
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Species	: <i>Piper betle L.</i>



**Gambar 2.2** Daun Sirih (*Piper betle L.*) (Samirana *et al.*, 2017).

### 2.2.2 Kandungan Kimia

Senyawa yang terkandung dalam tumbuhan sirih hijau dapat digunakan sebagai antiseptik. Kandungannya terdiri dari saponin, flavonoid, tanin, alkaloid (Sadiah *et al.*, 2022). Tanin memiliki kandungan antioksidan, antiinflamasi,



antimikroba sehingga banyak perhatian di bidang nutrisi, Kesehatan, serta obat-obatan lainnya. Alkaloid memiliki aktivitas sebagai antikanker dan antivirus. Flavonoid masuk dalam kelompok polifenol, merupakan senyawa yang dapat merangkap radikal bebas, yang juga berperan sebagai super antioksidan dan mempunyai aktivitas antiinflamasi, mencegah kerusakan oksidatif sel dan memiliki efek antikanker yang sangat kuat. Sedangkan saponin memiliki efek antitusif dan ekspektoran yang dapat meringankan batuk. Selain memiliki efek antitusif dan ekspektoran, saponin juga memiliki aktivitas antiinflamasi dibuktikan dengan adanya penghambatan pelepasan zat-zat proinflamasi yang di stimulasi oleh lipopolisakarida (Hasim *et al.*, 2019).

### **2.2.3 Khasiat Daun Sirih Hijau**

Khasiat dari daun sirih hijau adalah sebagai antiseptik, seperti halnya mengatasi keputihan, meredakan jerawat, mengobati luka bakar, menyembuhkan sariawan (Samirana *et al.*, 2017).

### **2.2.4 Morfologi Tanaman Sirih Hijau**

Tanaman sirih hijau tumbuh merambat. Daunnya berbentuk bundar sedikit lonjong, dibagian pangkalnya mempunyai bentuk seperti jantung, tulang bagian bawah berambut tipis dan sangat pendek, mempunyai warna putih panjangnya 5-18 cm, dengan lebar 2,5-10 cm. Pada bagian bunga mempunyai bentuk bulir, berhadapan dengan daun. Sedangkan daun pelindung berbentuk lingkaran sedikit lonjong, dengan panjang  $\pm 1$  mm. Batang : Berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur hijau, hijau. Buah : Buni, bulat, hijau keabu-abuan. Akar : Tunggang, bulat, coklat kekuningan (Putri *et al.*, 2019).

### **2.2.5 Nama Daerah**

Dibeberapa daerah tanaman sirih hijau memiliki nama yang berbeda diantaranya seureuh (Sunda), base (Bali), leko, kowak, malo, malu (Nusa Tenggara), dontile, parigi, ganjeng (Sulawesi), suruh (Jawa) (Riawenni, 2017).

### **2.2.6 Fitokimia Daun Sirih Hijau**

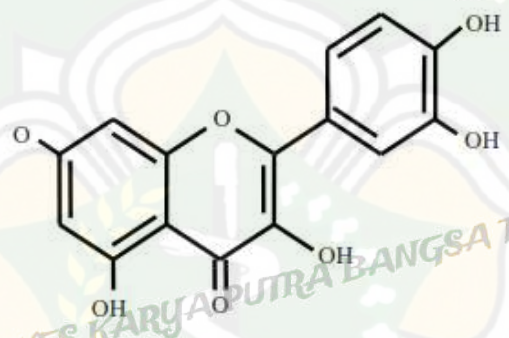
Senyawa yang terkandung dalam daun sirih hijau antara lain seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid. Flavonoid dapat digunakan sebagai antimikroba dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat metabolisme energi.

Flavonoid mengakibatkan kerusakan dinding sel bakteri, lisosom dan mikrosom. Sedangkan tanin adalah polifenol yang dapat larut oleh air. Mekanismenya menghambat enzim ekstraseluler mikroba dan menghambat fosforilasi oksidasi (Noventi & Carolia, 2016).

### 2.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan sebelum bahan olahan obat dibuat menjadi obat jadi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia suatu bahan seperti kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid yang tentunya kandungan ini memiliki efek yang sangat menguntungkan bagi tubuh (Ikalinus *et al.*, 2015).

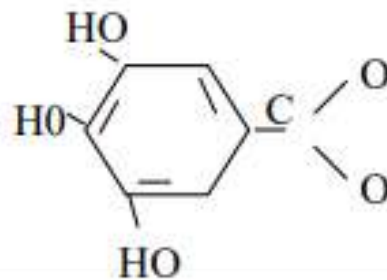
#### 2.3.6.1 Flavonoid



Gambar 2.3 Struktur kimia flavonoid (Redha, 2013).

Flavonoid mempunyai sifat polar, flavonoid adalah kelompok senyawa metabolit skunder yang banyak ditemukan pada tanaman. Flavonoid termasuk golongan senyawa phenolic yang mempunyai struktur kimia C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Redha, 2013). Flavonoid dapat digunakan sebagai antibakteri. Senyawa flavonoid bekerja dengan cara menghambat membrane sel sitoplasma. Ketika mengalami konsentrasi yang rendah, senyawa flavonoid merusak membrane sel sitoplasma dan mengakibatkan kerusakan metabolit yang kemudian mengaktifkan sistem enzim mikroba, tetapi ketika konsentrasi tinggi dapat merusak membran dan mengendapkan protein sel. Mekanisme kerja flavonoid akan menghambat fungsi membrane sel yang membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstra seluler yang kemudian dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intra seluler. Berfungsi sebagai antibakteri dan dapat mendenaturasi protein merusak sel secara permanen dan tidak bisa diperbaiki lagi (Christabel *et al.*, 2019).

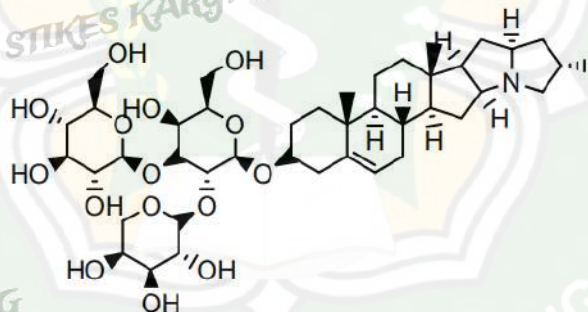
### 2.3.6.2 Tanin



**Gambar 2.4** Struktur kimia tanin (Siregar, 2017).

Tanin mempunyai sifat polar, rumus empiris dari tanin adalah  $C_{14}H_{14}O_{11}$  (Siregar, 2017). Senyawa tanin diketahui merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai anti bakteri (Malangngi *et al.*, 2012). Tanin dapat digunakan sebagai antimikroba (Putriana, 2018). Mekanisme kerja tanin adalah menghambat DNA topoisomerase dan enzim reverse transcriptase sehingga sel-sel bakteri sudah tidak dapat diperbaiki lagi (Noventi & Carolia, 2016).

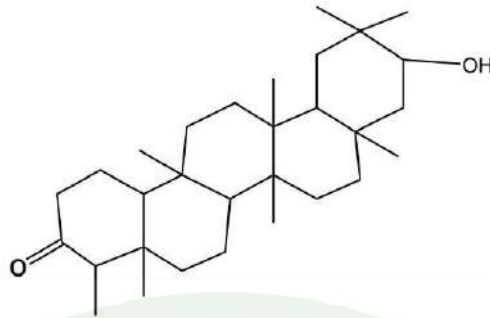
### 2.3.6.3 Saponin



**Gambar 2.5** Struktur kimia saponin (Noer *et al.*, 2018).

Saponin bersifat semipolar (Putriana, 2018), memiliki rumus molekul  $C_{27}H_{42}O_3$  (Noer *et al.*, 2018). Saponin dapat digunakan sebagai antimikroba dengan cara menghambat kestabilan membran sel bakteri, karena saponin merupakan senyawa yang dapat larut dalam lipid air atau disebut dengan semipolar, sehingga saponin dapat terkonsentrasi dalam membrane sel mikroba (Putriana, 2018).

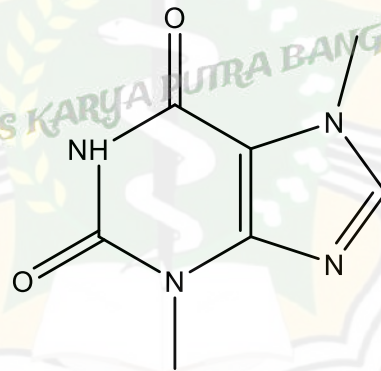
#### 2.3.6.4 Triterpenoid



**Gambar 2.6** Struktur kimia Triterpenoid (Setiawati, 2016).

Senyawa triterpenoid bersifat non polar (Firdayani & Winarni Agustini, 2015). Terpenoid dapat digunakan sebagai anti bakteri dengan cara bereaksi terhadap protein trans membran (porin) pada membran luar dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan rusaknya porin (Arlofa, 2015).

#### 2.3.6.5 Alkaloid



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

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).

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.

## **2.4 Ekstraksi**

### **2.4.1 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan salah satu cara dimana digunakan untuk memisahkan suatu tanaman obat secara fisika maupun kimia bahan padat atau cair pada tanaman obat. Metode ekstraksi terdapat dua jenis yaitu dengan cara panas dan dingin. Untuk cara panas dibagai menjadi empat jenis diantaranya refluks, digesti, infus, dekok dan Soxhlet. Sedangkan dengan cara dingin dibagi menjadi dua jenis diantaranya adalah maserasi dan perkolasi (Samirana *et al.*, 2017).

### **2.4.2 Hidroekstraksi**

Hidroekstraksi adalah salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan dikarenakan metodenya lebih mudah diaplikasikan (Helda *et al.*, 2018). Hidroekstraksi adalah proses isolasi yang melibatkan air dan tekanan suhu. Air sebagai katalis sedangkan temperatur sebagai tekanan (Koalanus *et al.*, 2019).

## **2.5 Bakteri**

Bakteri merupakan segerombolan organisme yang sangat kecil, yang hanya bisa dilihat menggunakan mikroskopis yang pada umumnya bakteri ini ber sel tunggal, tidak memiliki membrane inti sel, memiliki dinding sel namun berklorofil. Walaupun ukurannya yang sangat kecil, bakteri mempunyai peran yang sangat penting dalam kehidupan. Peran penting bakteri antara lain digunakan dalam sektor industri pangan. Namun tak jarang ada bakteri yang bersifat merugikan, seperti

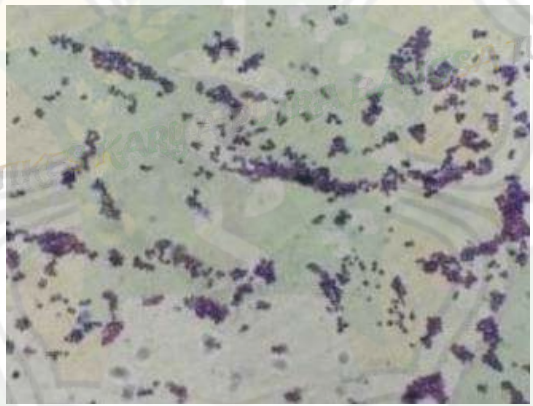
bakteri yang dapat membusukkan makanan dan tak jarang juga menyebabkan penyakit yang berujung infeksi bagi manusia (Febriza *et al.*, 2021).

### 2.5.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

#### 2.5.1.1 Klasifikasi

- Domain : Bacteria
- Kerajaan : Eubacteria
- Filum : Firmicutes
- Kelas : Bacilli
- Ordo : Bacillales
- Famili : Staphylococcus
- Genus : Staphylococcus
- Spesies : *S.Aureus* (Sari & Al Basyarahil, 2021)

#### 2.5.1.2 Morfologi



**Gambar 2.8** *S.Aureus* (Antibakteri, 2015)

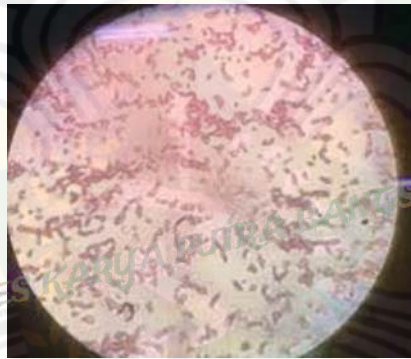
*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram yang negatif, yang tumbuh pada suhu 34°C, menghasilkan pigmen berwarna kuning keemasan. Mikroba ini ditemukan di hidung sebanyak 30-50% orang dewasa sehat, kemudian di tinja 20% dan di kulit sebanyak 5-10% (Sari & Al Basyarahil, 2021).

## 2.6.1 Bakteri *Eschericia coli*

### 2.6.1.1 Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Eschericia</i>
Spesies	: <i>E.Coli</i> (Sadiyah <i>et al.</i> , 2022).

### 2.6.1.2 Morfologi



**Gambar 2.9** *E.Coli* (Hidayati, 2016).

Bakteri *E.Coli* mempunyai ciri dengan Panjang 2  $\mu\text{m}$ , dengan diameter 0,7  $\mu\text{m}$ , dan mempunyai sifat anaerob fakultatif. Membentuk koloni berbentuk bundar, halus, tepi yang nyata serta cembung (Hidayati, 2016).

Terdapat tiga struktur utama yang dapat digunakan untuk membedakan jenis serotipe kelompok *E.Coli* adalah dari kapsul, dinding sel, dan flagela. Kapsul *E.Coli* adalah jenis polisakarida yang dapat melindungi membrane luar dari sistem fagositosis dan komplemennya tergolong antigen K. Dinding sel *E.Coli* adalah liposakarida yang mempunyai sifat pyrogen, dan dapat menghasilkan endotoksin. Sedangkan flagela *E.Coli* mempunyai struktur yang terdiri atas proteinsifatnya antigenic yang dikenal sebagai antigen H. Faktor virulensi *E.Coli* juga disebabkan oleh enterotoksin, colisin, hemolisin, molekul pengikat besi (*aerobactin* dan *entrobactin*), siderophores (Sutiknowati, 2016).

## 2.6 Pelarut

Pelarut merupakan perwujudan benda gas, maupun cair yang dapat melarutkan benda padat, gas dan cair kemudian menghasilkan sebuah larutan. Didalam penelitian pelarut yang sangat umum digunakan adalah pelarut organik (mengandung bahan karbon). Pelarut kebanyakan memiliki titik didih yang relative rendah, mudah menguap. Pelarut biasanya mempunyai jumlah yang lebih besar dari pada zat yang akan dilarutkan. Lrutan terdiri dari (*solvent*) zat yang ada pada larutan dalam jumlah yang lebih besar, sedangkan (*solute*) adalah zat yang terlarut. Pelarut bertujuan untuk melarutkan reaktan dan reagen agar keduanya bisa tercampur dengan baik agar dapat mengubah reaktan menjadi produk. selain itu pelarut juga berguna sebagai pengontrol suhu agar tidak terjadinya tabrakan antar partikel, diharapkan partikel tersebut dapat bereaksi lebih cepat (Kuntaarsa *et al.*, 2021).

Untuk bisa dijadikan sebagai pelarut, pelarut harus memenuhi beberapa kualifikasi diantaranya memiliki kepolaran yang sama dengan bahan yang akan di ekstrak, memiliki selektivitas yang tinggi sehingga yang terlarut hanya senyawa yang diinginkan saja seperti senyawa pengotor yang tidak di butuhkan, murah, melimpah, mudah diperoleh, tidak beracun, tidak korosif, stabil secara termal, tidak mudah terbakar, tidak menyebabkan emulsi, tidak reaktif, titik didih yang tidak harus membutuhkan pemanasan yang terlalu tinggi sehingga kandungan dari bahan ekstrak yang tidak tahan panas bisa terjaga dengan baik, kemudian viskositas dan densitas pelarut lebih baik hidrofilik agar bahan yang mengandung air bisa terlarut dengan baik, sedangkan bial pelarut bersifat hidrofob diharapkan bisa menembus dinding sel bahan yang akan digunakan / diekstrak akan ditolak lebih dulu dengan adanya air, kecepatan alir pelarut sebisa mungkin lebih besar disbanding laju alir bahan ekstraksi, supaya ekstrak yang terlarut dapat segera terangkat keluar dari permukaan bahan yang berbentuk padat, kemudian yang terakhi harus dapat menyesuaikan dengan kalarutan pelarut, tekanan uap pelarut, stabilitas pelarut, dan selektivitas pelarut (Kuntaarsa *et al.*, 2021).



### 2.6.1 Aquadest

Aquadest adalah bahan yang berbentuk cair seperti air, merupakan hasil dari proses penyulingan yang terbebas dari zat pengotor, sehingga memiliki sifat yang murni. Aquades bersifat polar memiliki warna bening / transparan, tidak memiliki bau, dan tidak memiliki rasa. Dan aquades ini dapat digunakan untuk membersihkan alat-alat laboratorium agar terbebas dari zat pengotor (Khotimah *et al.*, 2018).

Aquadest memiliki kelebihan dan kekurangan, kelebihan aquadest dibandingkan jenis pelarut lainnya, diantaranya mudah didapatkan, harganya relatif murah, sifatnya yang netral sehingga tidak berbahaya, memiliki kadar mineral yang rendah. Sedangkan kekurangan dari aquadest adalah hanya pada saat proses evaporasi, karena mempunyai titik didih yang lebih tinggi (panas yang lebih cepat) dibandingkan dengan pelarut lainnya (Dofianti & Yuniwati, 2018). Air mampu melarutkan flavonoid yang tidak memiliki aktivitas signifikan terhadap antimikroba dan senyawa fenolat yang larut dalam air yang memiliki aktivitas antioksidan (Charisma, 2020).

### 2.7 Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibiotik yang memiliki efektivitas untuk melawan bakteri baik gram positif maupun gram negatif (Chrisnandari, 2018). Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki mekanisme yang sama dengan kandungan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme menghambat sintesis asam nukleat yang menyebabkan penghambatan pembentukan DNA dan RNA serta merusak membran sel bakteri (Rijayanti, 2014).

### 2.8 Anti Bakteri

Anti bakteri adalah suatu zat yang bisa digunakan untuk mengganggu pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu perkembangan mikroba yang dapat merugikan. Bakteri merupakan mikroorganisme yang berbahaya, dimana dapat menyebabkan penyakit bahkan tak jarang juga menyebabkan infeksi serta dapat merusak suatu bahan pangan (Fione & Karamoy, 2013).

## 2.9 Uji Aktivitas Anti Bakteri

### 2.9.1 Metode Difusi

Metode bertujuan sebagai petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh adanya suatu senyawa salah satunya dilakukan dengan cara pengukuran zona bening. Syarat untuk uji kepekaan bakteri harus memiliki jumlah  $10^5$ - $10^8$  CFU/mL (Samirana *et al.*, 2017)

**Tabel 2.1** Kategori Diameter Zona Hambat (Surjowardojo *et al.*, 2015).

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

#### 2.9.1.1 Metode Sumuran

Metode sumuran dibuat dengan melubangi agar padat yang sudah diinokulasi dengan bakteri. Banyaknya lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan bersama dengan ekstrak yang akan diuji. Sesudah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri kemudian diamati apakah ada atau tidaknya hambatan di sekitar lubang (Samirana *et al.*, 2017).

Kelebihan dari metode ini adalah praktis dan mudahnya untuk mengukur luas zona hambat. Kesulitan dari metode ini adalah terdapat sisa agar di media yang digunakan (Antibakteri, 2015).

#### 2.9.1.2 Metode Cakram

Metode cakram merupakan metode yang dilakukan dengan menggunakan kertas cakram sebagai media antimikroba, yang sudah melalui penjemuran kedalam bahan uji. Kertas cakram diletakkan pada permukaan media agar yang sudah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, setelah itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Kelebihan dari metode cakram ini adalah praktis dan cepat pada saat penyiapan cakram (Antibakteri, 2015).

#### 2.9.1.3 Metode Silinder

Metode silinder merupakan metode dengan meletakkan silinder yang dibuat dari besi tahan karat, kemudian diletakkan diatas media agar yang telah diinokulasi

dengan bakteri. Penempatan silinder dengan cara di tegakkan diatas media agar, kemudian diisi dengan larutan yang kemudian diuji dan dilakukan inkubasi. Setelah proses inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya zona hambat di sekitar silindir dengan menggunakan alat jangka sorong dengan satuan mm (Antibakteri, 2015).

### 2.9.2 Metode Pengenceran

Metode pengenceran merupakan, proses pengenceran larutan ujisampai diperoleh kadar sari, dan pada tiap-tiap larutan uji ditambahkan suspensi bakteri (Sylvia, 2008). Dengan melakukan penambahan suspensi pada tiap larutan diharapkan penghambatan bakteri lebih sensitif. Kelebihan dari metode ini adalah hematnya penggunaan bahan uji. Untuk parameter yang digunakan adalah KBM (Kadar Bunuh Minimum). Kadar tersebut dapat diketahui melalui penggoresan larutan uji pada media padat, yang kemudian dapat diketahui aktivitas antibakterinya (Rahmawati *et al.*, 2016).

### 2.10 Hipotesis

2.10.1 Terdapat aktivitas antibakteri dari metode kukus pada variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper battle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* (Tilarso *et al.*, 2023)

2.10.2 Terdapat aktivitas antibakteri dari metode rebus pada variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper battle*) terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* (Tilarso *et al.*, 2023)

## BAB III METODOLOGI

### 3.1 Alat

Alat yang digunakan diantaranya, pisau, kain penyari, nampan, kompor gas, panci, beker gelas, cawan petri (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), rak tabung reaksi, tabung reaksi (Pyrex), timbangan analitik, plat tetes, lampu spiritus, pipet ukur, inkubator (model DNP *Electro Thermal Incubator*), bunsen, timbangan digital, kamera, spiritus, ose steril, kaki tiga.

### 3.2 Bahan

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) daun sirih (*Piper batle*), bakteri *S.Aureus*, bakteri *E.Coli*, untuk media uji dalam menggunakan Nutrient broth (NB) (Merck), *Nutrient agar* (NA) (Merck), serta bahan tambahan pendukung lainnya adalah pereaksi mayer, asam klorida, pereaksi dragendroff (Merck), asam klorida pekat (HCL P) (Merck), Klorida ( $FeCl_3$ ) (Merck), Besi (III), asam asetat anhidrat ( $C_4H_6O_3$ ), etil asetat ( $C_4H_8O_2$ ), asam sulfat pekat ( $H_2SO_4$ ) (Merck), asam klorida (HCL) (Merck), air panas, dan yang terakhir untuk pelarut menggunakan aquadset.

### 3.3 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang diambil dari Kabupaten Tulungagung.

### 3.4 Sampel penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang diambil di Desa Bendiljati wetan, Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung.

### 3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah ketetapan yang dilakukan oleh peneliti, dalam bentuk apapun kemudian nantinya akan digunakan untuk dipelajari sehingga outputnya adalah memperoleh informasi terkait hal tersebut untuk diambil kesimpulannya (Ulfa, 2021). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah variabel bebas dan terikat.

### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas digunakan untuk menganalisis terkait hubungan antara variabel yang dapat mempengaruhi perubahan atau munculnya variabel dependent (terikat) (Ulfa, 2021). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan metode kukus dan rebus pada variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) yang dilakukan uji aktivitasnya terhadap bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*.

### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat adanya variabel bebas (Ulfa, 2021). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah daya hambat variasi kombinasi ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap pertumbuhan bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*.

## 3.6 Jalannya Penelitian

### 3.6.1 Determinasi Tanaman

Tujuan dilakukannya determinasi tanaman untuk mengetahui kebenaran dan keaslian jenis tanaman yang akan digunakan selain itu juga untuk mendapatkan nomor surat determinasi tanaman (Indratmoko *et al.*, 2021). Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Herba Materia Medika kota Batu Malang.

### 3.6.2 Pembuatan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih (BWDS)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa belimbi L.*) dan daun sirih hijau (*Piper betle*), yang didapat dari Desa Bendiljati wetan, Tulungagung dan di determinasi di Laboratorium Herba Materia Medika kota Batu, Malang. Tahapan pembuatan ekstrak dimulai dari mencari buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau, yang kemudian dilakukan penyortiran atau seleksi mana yang baik untuk digunakan sebagai ekstrak. Yang pertama dilakukan belimbing wuluh dipilih dengan ciri buah tidak ada kerusakan, buah bewarna kuning segar. Sedangkan daun sirih hijau dipilih daun yang bewarna hijau segar, setelah melalui proses penyortiran kemudian bahan di cuci menggunakan air yang mengalir dan bersih, kemudian di tiriskan pada suhu ruangan sampai kering. Setelah bahan dirasa cukup kering terbebas dari air kemudian dilakukan pemotongan bahan

$\pm 0,5$  cm. Bahan yang sudah dipotong dilakukan penimbangan seberat 100 gram (Farhamzah & Indrayati., 2019).

### **3.6.3 Metode Kukus**

Perlakuan pada metode kukus, menyiapkan air secukupnya pada dandang yang telah dilubangi pada bagian penutup dan dimasukkan termometer suhu pada bagian yang dilubangi tersebut sebagai pengontrol suhu, lalu dimasukkan sampel sebanyak 200 gram dipanaskan pada kompor gas dengan suhu  $90^{\circ}\text{C}$  dengan lama waktu  $\pm 30$  menit kemudian disaring dengan kertas saring (Farhamzah & Indrayati., 2019). Menurut (Aristya, 2015) pemanasan dibawah suhu  $100^{\circ}\text{C}$  tidak akan merusak senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman.

### **3.6.4 Metode Rebus**

Perlakuan pada metode rebus menyiapkan air sebanyak 100 ml kemudian dipanaskan pada waterbath dengan pengaturan suhu  $50^{\circ}\text{C}$  dan ditambahkan sampel yang tadi telah dipotong sebanyak 100 gram, kemudian tunggu dalam kurun waktu  $\pm 30$  menit, kemudian disaring menggunakan plastik kasa untuk penyaringan pertama, penyaringan kedua menggunakan kertas saring (Farhamzah & Indrayati, 2019). Menurut (Aristya, 2015) pemanasan dibawah suhu  $100^{\circ}\text{C}$  tidak akan merusak senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman.

## **3.7 Skrining Fitokimia**

### **3.7.1 Flavonoid**

Sampel hasil ekstraksi dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 1 gr, lalu ditambahkan HCL pekat setelah itu panaskan menggunakan penangas air dengan waktu  $\pm 15$  menit. Apabila terjadi perubahan warna kuning atau merah bisa dikatakan positif mengandung flavonoid (kalkon, flavon, dan aeron) (Azizah & Wati., 2018).

### **3.7.2 Tanin**

2 g sampel hasil ekstraksi dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan etanol sejumlah 1 mL, ditambahkan lagi dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1 % sebanyak 2-3 tetes. Apabila terjadi perubahan warna hitam kebiruan bisa dikatakan sampel positif mengandung tanin (Azizah & Wati., 2018).

### 3.7.3 Saponin

Menimbang setengah gram hasil ekstraksi dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL air panas setelah itu dikocok selama 1 menit. Apabila menimbulkan busa ditambahkan HCL 1N, jika busa tetap stabil selama 10 menit, dengan ketinggian 1-3 cm, bisa dikatakan positif mengandung saponin (Azizah & Wati., 2018).

### 3.7.4 Terpenoid

Menimbang 2 gr sampel hasil ekstraksi kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL etil asetat dan dikocok. Bilamana terdapat lapisan etil asetat, lapisan tersebut diambil lalu diteteskan pada plat tetes, tunggu sampai kering. Setelah kering ditambahkan 1 tetes asam sulfat pekat, dan 2 tetes asam asetat anhidrat. Jika terbentuk busa berwarna merah atau kuning bisa dikatakan positif mengandung terpenoid, jika terbentuk warna hijau berarti positif mengandung steroid (Azizah & Wati., 2018).

### 3.7.5 Alkaloid

Menimbang 1 g ekstrak, dimasukkan kedalam cawan penguap kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N sebanyak 9 mL. Setelah semua bahan tercampur kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, dinginkan 2 menit dan saring. 3 tetes filtrat di teteskan ke tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer,. Jika terbentuk endapan warna putih kekuning-kuningan, menunjukkan ekstrak mengandung alkaloid (Azizah & Wati., 2018).

## 3.8 Uji Aktifitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Hijau.

### 3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi adalah proses menghilangkan semua jenis organisme hidup diantaranya fungi, bakteri, protozoa, mycoplasma, atau virus yang terdapat pada suatu benda. Sterilisasi yang paling sering digunakan adalah sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi alat dengan cara mencuci terlebih dahulu alat dengan air bersih, kemudian dikeringkan, setelah itu dibungkus dengan kertas perkamen untuk cawan petri, sedangkan alat-alat gelas seperti (tabung reaksi, erlenmeyer, gelas beker) ditutup mulutnya menggunakan kapas

steril yang terbalut dengan kain kasa steril, dibungkus dengan kertas perkamen, di sterilkan dalam oven pada suhu 150°C dalam kurun waktu 2 jam. Untuk kapas, tali, gelas ukur, pipet tetes, kaca objek dibungkus menggunakan kertas perkamen di sterilkan dengan autoklaf di suhu 121°C dalam kurun waktu 15 menit (Widhorini *et al.*, 2019). Sterilisasi bahan *Nutrient borth* dan *Nutrient agar* dilakukan menggunakan wadah erlenmeyer dengan mulut ditutup menggunakan kapas yang dilapisi aluminium foil serta badan erlenmeyer di bungkus dengan aluminium foil (Handayani *et al.*, 2013).

### **3.8.2 Pembuatan Larutan Kontrol Uji**

#### **3.8.2.1 Pembuatan Larutan Uji Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing wuluh dan Daun Sirih**

Dalam penelitian ini pembuatan larutan uji kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menggunakan perbandingan 2:1 (20 mL : 10 mL) kemudian dilakukan pengenceran menggunakan aquadest volume masing-masing 10 mL. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Konsentrasi 10% dibuat dengan 1 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 9 mL, konsentrasi 20% dibuat dengan 2 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 8 mL, konsentrasi 30% dibuat dengan 3 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 7 mL, konsentrasi 40% dibuat dengan 4 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 6 mL, konsentrasi 50% dibuat dengan 5 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 5 mL, konsentrasi 60% dibuat dengan 6 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 4 mL, konsentrasi 70% dibuat dengan 7 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan aquadest sebanyak 3 mL, konsentrasi 80% dibuat dengan 8 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 2 mL, konsentrasi 90% dibuat dengan 5 mL ekstrak kombinasi kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 1 mL, konsentrasi 100% dibuat dengan 10 mL ekstrak kombinasi tanpa di larutkan dengan aquadest (Farhamzah & Indrayati, 2019).



### 3.8.2.2 Kontrol Positif

Untuk kontrol positif menggunakan antibiotik yang beredar dipasaran yaitu, kloramfenikol 500 mg. dengan konsentrasi 1% (Kumayas *et al.*, 2015).

### 3.8.2.3 Kontrol Negatif

Untuk kontrol negatif menggunakan aquadest. Tujuan digunakannya aquadest sebagai kontrol negatif adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri *S.aureus* & *E.coli*, diharapkan dari hasil itu bisa diketahui bahwa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri bukan pelarutnya melainkan zat uji. Caranya langsung merendam kertas cakram kedalam aquadest steril (Christabel *et al.*, 2019).

### 3.8.3 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Sediaan *nutrient broth* ditimbang sebanyak 0,32 gram, masukkan kedalam erlenmeyer kemudian ditambahkan sebanyak 40 mL aquadest, setelah itu dipanaskan diatas magnetic stiter sampai mendidih dan bewarna kuning bening. Setelah itu masuk ke proses sterilisasi media menggunakan autoklaf dengan suhu 212°C dalam waktu 15 menit, dengan mulut erlenmeyer di tutup menggunakan kapas yang di bungkus dengan aluminium foil, serta badan erlenmeyer juga dibungkus dengan aluminium foil (Misna *et al.*, 2016).

### 3.8.4 Pembuatan Media *Nutrient agar* (NA)

Pembuatan media dengan menggunakan *nutrient agar*, sebanyak 100 mL. Untuk penimbangan bahan disesuaikan dengan kebutuhan, kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest. Campuran *nutrient agar* dan aquadest di aduk sampai bewarna kuning bening menggunakan magnetic stiler, setelah itu masuk proses sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media yang sudah steril di tuang ke dalam plate maupun tabung reaksi dengan kondisi hangat suhu 40°-50°C, selanjutnya didiamkan sampai media memadat (Widhorini *et al.*, 2019).

### 3.8.5 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan agar bakteri tumbuh dan memulai metabolisme pada media yang baru atau memperbanyak jumlah koloni bakteri untuk digunakan sebagai tahapan selanjutnya yaitu inokulasi bakteri. Peremajaan

bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu jarum ose biakan murni lalu digoreskan dalam biakan media setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C dalam kurun waktu 24 jam (Wijayati *et al.*, 2014).

### 3.8.6 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba. Caranya dengan melakukan fiksasi terlebih dahulu kemudian pengambilan sampel bakteri menggunakan ose yang sudah dipijarkan setelah itu mengoleskan sampel pada kaca sediaan. Langkah selanjutnya dilakukan pemberian pewarnaan primer menggunakan *Crystal Violet* selama 1 menit. Setelah melakukan pewarnaan primer maka dilanjut dengan pemberian larutan mordan yaitu iodine/lugol selama 1 menit. Setelah 1 menit kemudian dilakukan pencucian menggunakan alcohol 96% atau bisa juga menggunakan aseton. Tahapan terakhir adalah melakukan *counterstain* dengan menggunakan safranin (Marbun, 2020).

### 3.8.7 Inokulasi Bakteri

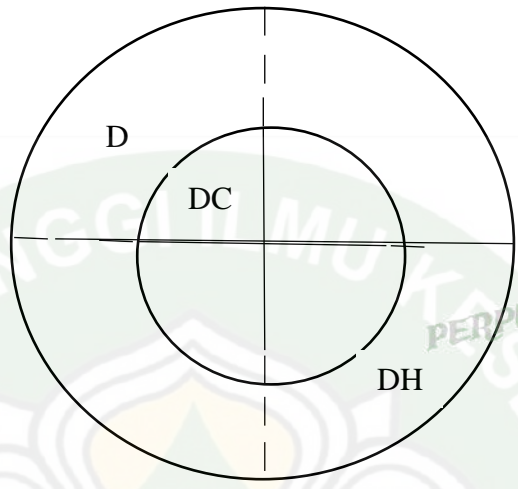
Tahapan selanjutnya melakukan inokulasi bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli* pada masing masing media agar ke plate secara merata. Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil 1 ose bakteri kemudian dioleskan kedalam tabung reaksi yang berisikan media nutrient borth. Pada penutup setiap tabung dilapisi menggunakan plastic wrap gunanya untuk mencegah adanya kontaminasi. Kemudian tabung diinkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C (Misna *et al*, 2016).

### 3.8.8 Pengukuran Zona Hambat

Pengukuran zona hambat bertujuan untuk mengukur seberapa luas zona hambatan pertumbuhan mikroba berupa diameter (mm) termasuk dari kertas cakram. Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap hambatan dari arah yang berbeda untuk memperoleh hasil akurasi data (Yusriana *et al.*, 2014).

Rumus pengukuran zona hambat sebagai berikut :

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



**Gambar 3.1** Pengukuran diameter zona hambat (Wenda *et al.*, 2017).

Keterangan :

DV : Diameter vertical

DH : Diameter Horizontal

DC : Diameter cakram

**3.9 Analisis Data**

Analisis data menggunakan Uji *Analysis of Variance* (Anova) dengan program SPSS versi 24. Data diuji dengan pengujian normalitas kemudian homogenitas sebagai persyaratan analisis data sebelum menggunakan uji Anova. Adapun Langkah untuk melakukan pengolahan data sebagai berikut :

**3.9.1 Uji Normalitas Data**

Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui bahwa data yang dilakukan terdapat distribusi yang normal atau tidak (Febrianasari, 2018). Uji *Shapiro-Wilk* pada penelitian ini digunakan sebagai uji normalitas data. Jika data tidak terdistribusi normal, maka pengujian dilakukan dengan menggunakan *Kruskal Wallis*.

Perumusan Hipotesis :

H<sub>0</sub> : data terdistribusi secara normal

H<sub>1</sub> : data tidak terdistribusi secara normal

Pengambilan keputusan :

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

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

### 3.9.2 Uji Homogenitas

Tahapan selanjutnya melakukan uji homogenitas yang bertujuan untuk mengetahui data bersifat homogen atau tidak. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *Levene*. Setelah uji *Levene* kemudian dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

Perumusan Hipotesis :

$H_0$  : data yang diperoleh homogen

$H_1$  : data yang diperoleh tidak homogen

Pengambilan Keputusan :

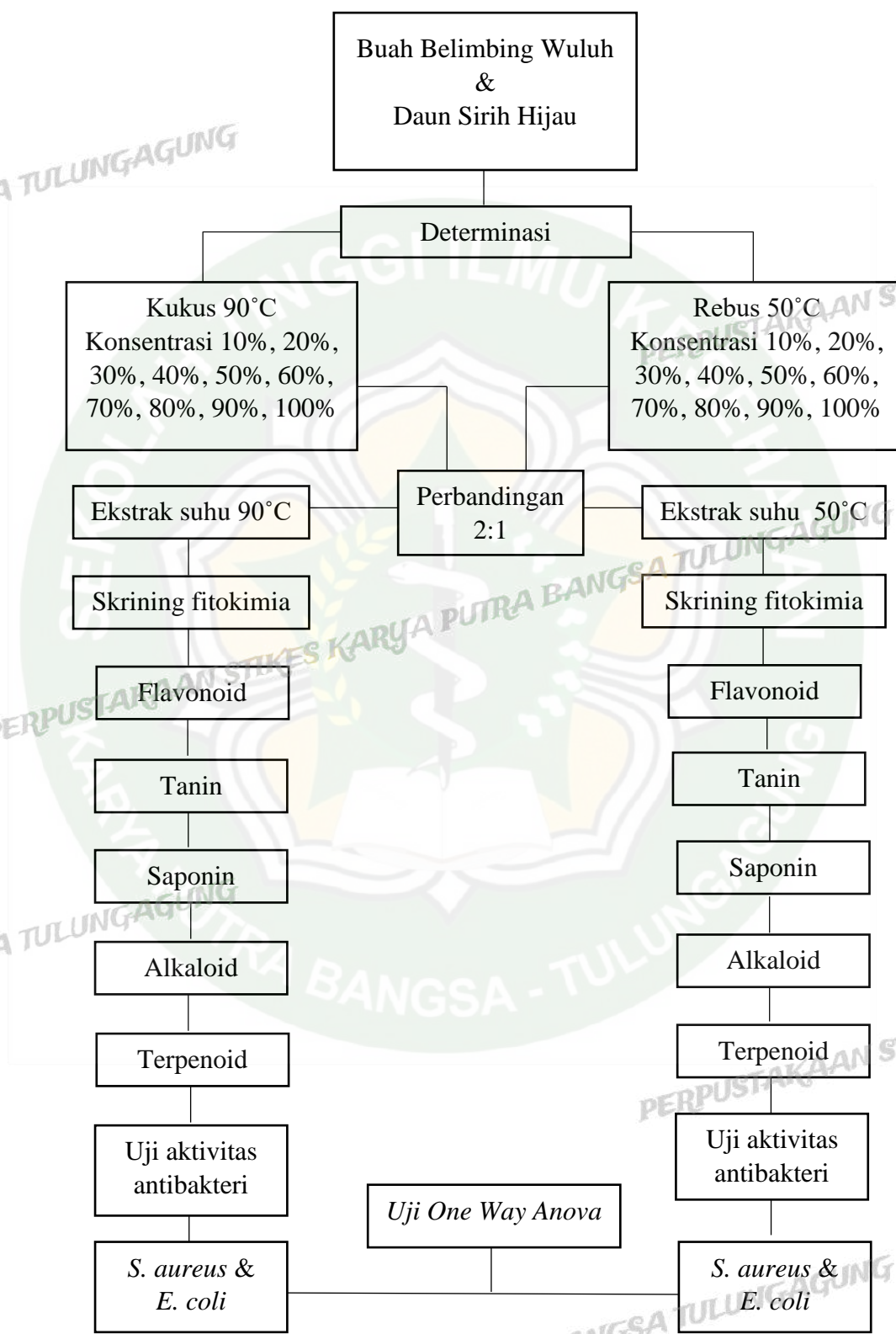
Jika  $p > 0,05$ ; maka  $H_0$  diterima

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

### 3.9.3 Uji *Post Hoc* LSD

Uji *post hoc* digunakan untuk mengetahui perbedaan secara lebih detail. Uji ini merupakan lanjutan dari proses setelah uji *Anova*. *LSD* (*Least Significance Different*) merupakan uji *post hoc* yang dilakukan dalam penelitian ini untuk menentukan rata-rata dua perlakuan yang berbeda secara menyeluruh.

### 3.10 Kerangka Penelitian



Gambar 3.2 Kerangka Penelitian

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman belimbing wuluh & sirih hijau dilakukan di UPT Materia Medika Batu, Malang. Hasil determinasi dengan nomor surat 074/467/102.20-A/2022 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah belimbing wuluh dengan nama latin *Averrhoa Bilimbi L* dengan kunci dterminasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-197b-208b-219b-220b-224b-225b-227b-229b-230b-234b-235b-236b-237b-238b:Oxalidaceae-a:Averrhoa-1b:A.*bilimbi.*, bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah buahnya. Sedangkan untuk sirih hijau dengan nomor surat determinasi 074/466/102.20-A/2022 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah daun sirih hijau dengan nama latin *Piper bettle L*. dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b-59b-61b-62b-63a-64a:Piperaceae-1a:*P.bettle*. Bagian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daunnya. Surat hasil determinasi tanaman belimbing wuluh terdapat pada **Lampiran 1**. Surat hasil determinasi tanaman daun sirih terdapat pada **Lampiran 2**.

#### 4.2 Pembuatan Kombinasi Ekstrak BWDS

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan daun sirih hijau (*Piper betle*) dengan ciri-ciri buah belimbing wuluh memiliki warna hijau segar dan tidak ada kerusakan pada buah. Sedangkan pemilihan sampel untuk daun sirih dipilih daun yang bewarna hijau segar, dengan bentuk yang sempurna dan lebar kurang lebih 5-10 cm (Suci *et al.*,2019). Ekstrak tanaman buah belimbing wuluh dan daun sirih dibuat dengan metode hidroekstraksi kukus di suhu 90°C dan rebus di suhu 50°C dengan perbandingan 2:1 menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dengan pelarut aquadest. Pada proses pengukusan langkah pertama yang dilakukan adalah pengumpulan sampel buah belimbing wuluh dan daun sirih yang kemudian dilakukan penyortiran sortasi basah menggunakan air yang mengalir kemudian ditiriskan sampai kering. Selanjutnya dilakukan

pemotongan sampel 0,5 cm. Sampel yang sudah dipotong kemudian ditimbang seberat 100 gram selanjutnya mendidihkan air di alat pengukus suhu diatur sampai 90°C. Setelah suhu mencapai 90°C sampel dimasukkan kedalam alat pengukus selama 30 menit. Sampel di saring menggunakan kertas saring. Pada metode Rebus disiapkan air sebanyak 100 ml yang dipanaskan diatas waterbath dengan pengaturan suhu 50°C. Setelah itu ditambahkan sampel yang telah dipotong sebanyak 100 gram di tunggu selama 30 menit, kemudian dilakukan menggunakan kertas saring (Rahayu *et al.*,2016). Metode ini digunakan karena pelaksanaannya sederhana, peralatannya cukup mudah untuk di dapatkan sehingga diharapkan nanti masyarakat mampu untuk mengikuti ataupun membuat ekstrak dari tanaman belimbing wuluh dan daun sirih hijau. Selain itu metode hidroekstraksi mampu menarik senyawa yang bersifat polar, senyawa yang bersifat polar memiliki aktivitas antibakteri (Rahayu, *et al* 2016).

#### 4.3 Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia ini bertujuan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tanaman belimbing wuluh dan daun sirih hijau. Perlakuannya dengan menambahkan beberapa pereaksi, sehingga dapat diketahui dengan adanya perubahan warna maupun bentuk pada ekstrak. Pada penelitian ini ada 5 macam skrining yang dilakukan, yaitu flavonoid, tannin, saponin, terpenoid dan alkaloid. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak BWDS

Golongan Senyawa	Perlakuan	Keterangan	Hasil
Flavonoid	HCL pekat + dipanaskan dan dikocok	Merah	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Hitam	+
Saponin	Air panas + HCL 1N	Busa stabil	+
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 1 N + pereaksi mayer + pereaksi dragendrof	Coklat kemerahan	+

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

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid.

#### 4.3.1 Uji 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*). Hasil uji flavonoid ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau dalam penelitian ini menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna merah pada sampel setelah ditambahkan HCL pekat dan di panaskan. Tujuan ditambahnya HCL pekat pada skrining fitokimia adalah untuk mereduksi ikatan glikosida dan flavonoid serta proses pemanasan pada tabung yang berfungsi untuk mempercepat terjadinya reaksi tersebut (Muthmainnah, 2019). 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).



**Gambar 4.1** Hasil Uji Flavonoid Kombinasi Ekstrak BWDS

**Keterangan:** (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Flavonoid

#### 4.3.2 Uji 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 *et al.*, 2020).

Berdasarkan Gambar 4.2 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 ligannya (Ergina *et al.* 2014).



**Gambar 4.2** Hasil Uji Tanin Kombinasi Ekstrak BWDS

**Keterangan:** (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Tanin

### 4.3.3 Uji 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 4.3. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang

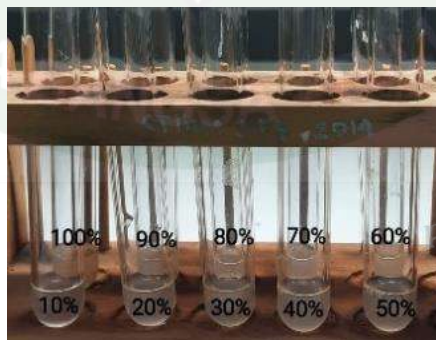
mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Komponen ikatan glikosida yang terdapat di dalam saponin menyebabkan cenderung bersifat polar (Sulistyarini *et al.* 2020).

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)

**Gambar 4.3** Hasil Uji Saponin Kombinasi Ekstrak BWDS

**Keterangan:** (a) Skrining Saponin

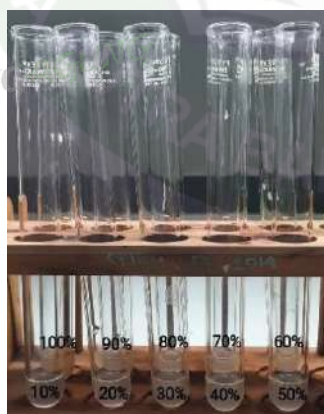
(b) Ekstrakk sebelum diberi perlakuan

#### 4.3.4 Uji Terpenoid

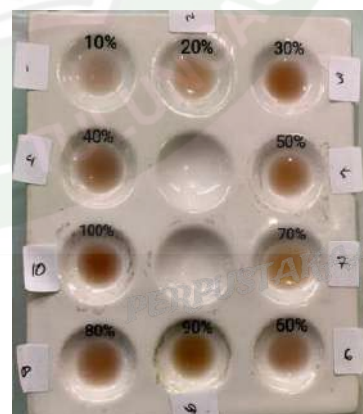
Uji skrining terpenoid pada ekstrak yaitu untuk mengetahui adanya senyawa terpenoid di dalam ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Hal tersebut ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Terdapatnya senyawa terpenoid pada ekstrak dikarenakan terpenoid 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 terkonjugasi. 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).



(a)



(b)

**Gambar 4.4** Hasil Uji Terpenoid Kombinasi Ekstrak BWDS

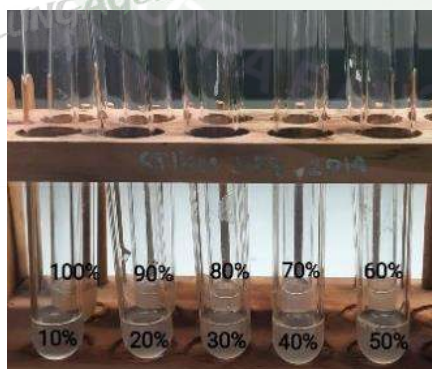
**Keterangan:** (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

(b) Skrining Terpenoid

#### 4.3.5 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 nitat 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. Pada Gambar 4.5 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 (Sa'adah *et al.*, 2015).



(a)



(b)

**Gambar 4.5** Hasil Uji Alkaloid Kombinasi Ekstrak BWDS

**Keterangan:** (a) Ekstrak Sebelum diberikan Perlakuan

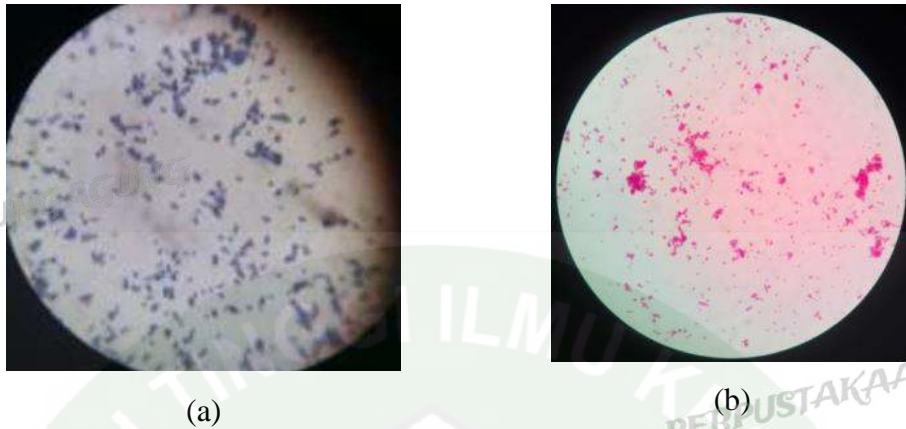
(b) Skrining Alkaloid

#### 4.4 Identifikasi Bakteri

Uji ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat preparat dengan cara di beri bakteri sampel melingkar dengan diameter 2-3 cm, preparat yang sudah berisi sampel kemudian dilakukan fiksasi diatas bunsen sampai kering. Setelah preparate kering, preparate digenangi dengan Gentian Violet 3 menit, setelah digenangi kemudian preparate di cuci dengan aquadest yang mengalir, kemudian digenangi dengan Lugol selama 2 menit, setelah itu di genangi dengan alcohol 70% hingga jerernih. Setelah digenangi dengan alkohol hingga bersih, Langkah selanjutnya adalah di bilas dengan aquadest dan digenangi menggunakan fuchsin selama 1 menit, kemudian dibilas lagi menngunakan aquadest kemudian di keringkan. Setelah semua prosedur terlaksana, Langkah selanjutnya adalah diamati dengan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x (Marbun, 2020). Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S.Aureus* yang memiliki kode ATCC 25923, dan bakteri *E.Coli* yang memiliki kode ATTC 25922 sudah bersertifikat resmi diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya, Jawa Timur Indonesia.

Uji pewarnaan gram ini dilakukan dengan tujuan memastikan kebenaran dari sertifikat yang telah tertera pada masing-masing bakteri dan dapat membedakan bakteri gram negatif maupun positif. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki kode ATCC 25923 menunjukkan pewarnaan berwarna ungu. Warna ungu ini terjadi karena bakteri ini mengikat Gentian Violet. *S.Aureus* ATCC 25923 merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bulat, susunan bergerombol seperti anggur. Sedangkan untuk bakteri *E.Coli* yang memiliki kode ATTC 25922 menunjukkan pewarnaan berwarna merah. Warna merah terjadi karena bakteri ini akan kehilangan pewarna Gentian Violet setelah dicuci dengan alkohol, dan ketika diberikan zat pewarna safranin akan tampak bewarna merah. *E.Coli* ATTC 25922, merupakan bakteri gram negative berbentuk batang, susunannya menyebar. Perbedaan sifat Gram positif dan negatif dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri gram

positif mengandung peptidoglikan lebih tebal jika dibandingkan dengan Gram negatif (Marbun, 2020). Hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.6



**Gambar 4.6** Hasil pewarnaan gram bakteri *S.Aureus* dan *E.Coli*

**Keterangan :** (a) Bakteri *S.Aureus* ATTC 25923

(b) Bakteri *E.Coli* ATTC 25922

#### 4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak BWDS

Uji ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Tahapan ini dimaksudkan untuk mengetahui seberapa besar potensi antibakteri ekstrak kombinasi tanaman belimbing wuluh dan daun sirih hijau terhadap bakteri *E.Coli* ATCC 25922 dan *S.Aureus* ATCC 25923. Penelitian ini dilakukan kombinasi ekstrak dengan perbandingan 2:1 dimana volume atau jumlah ekstrak tanaman belimbing wuluh lebih banyak dibandingkan dengan daun sirih hijau dengan menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%.

Hal ini mengacu kepada penelitian yang telah dilakukan oleh Tilarso, dkk 2022 yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih dan Belimbing Wuluh dengan Metode Hidroekstraksi”, penelitian tersebut menunjukkan bahwa zona hambat yang dimiliki oleh ekstrak tunggal daun sirih lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tunggal buah belimbing wuluh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih ketika perbandingan buah belimbing wuluh lebih besar dari daun sirih, yang kemudian nanti akan dilihat zona hambat yang dihasilkan lebih

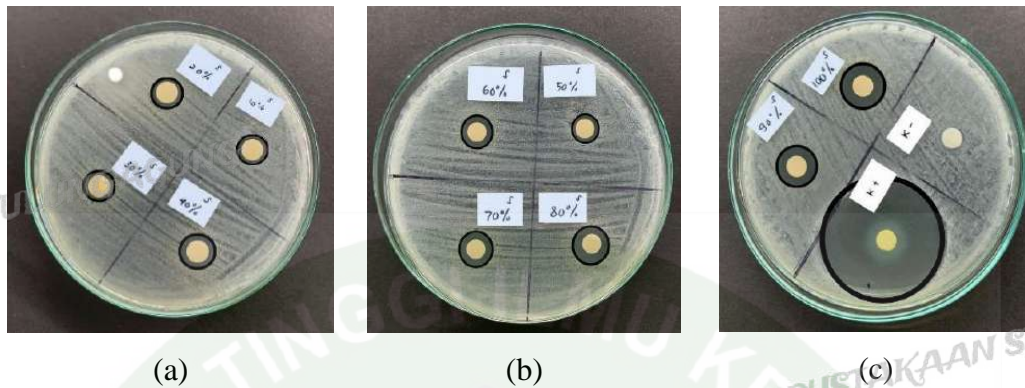
besar atau malah justru menurunkan efektivitas daya hambat terhadap bakteri *E. Coli* ATCC 25922 dan *S. Aureus* ATCC 25923 dari kedua tanaman tersebut.

**Tabel 4.2** Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *S. Aureus* ATCC 25923 Metode Kukus Suhu 90°C.

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi (mm)			$\bar{X} \pm SD$ (mm)	Sifat
		I	II	III		
<i>Staphylococcus</i>	10%	2	2,5	2	2,1 ± 0,28	Lemah
<i>Aureus</i>	20%	2,9	2,1	2,3	2,5 ± 0,41	Lemah
ATCC 25923	30%	4,4	4,4	4,7	4,5 ± 0,17	Lemah
	40%	4,5	4,6	4,7	4,5 ± 0,1	Lemah
	50%	5	5	5,7	5,2 ± 0,40	Lemah
	60%	6,2	6	6,3	6,1 ± 0,15	Sedang
	70%	6,4	6,2	6,1	6,2 ± 0,15	Sedang
	80%	8,2	8,2	8,2	8,2 ± 0	Sedang
	90%	8,2	8,2	8,1	8,1 ± 0,05	Sedang
	100%	9,7	10	9,8	9,8 ± 0,15	Sedang
	K-	100%	0	0	0	0
Kloramfenikol	1%	28	28	28	28 ± 0	Sangat Kuat

Tabel 4.2 merupakan hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau terhadap bakteri *S. Aureus* ATCC 25923 dengan metode kukus suhu 90°C. Berdasarkan penelitian (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. Terlihat terdapat perbedaan nilai yang berbeda di masing-masing konsentrasi. Dari perbedaan nilai tersebut dapat dikatakan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. Aureus* walaupun nilai yang di peroleh rata-rata memiliki kategori respon hambat yang sedang. Pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. Aureus* konsentrasi 10%-

50% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori lemah. Pada konsentrasi 60%-100% termasuk dalam kategori sedang.



**Gambar 4.7** Uji Aktivitas Antibakteri *S.Aureus* ATCC 25923 Metode Kukus Suhu 90°C.

**Keterangan :** (a) Konsentrasi 10%-40%

(b) Konsentrasi 50%-80%

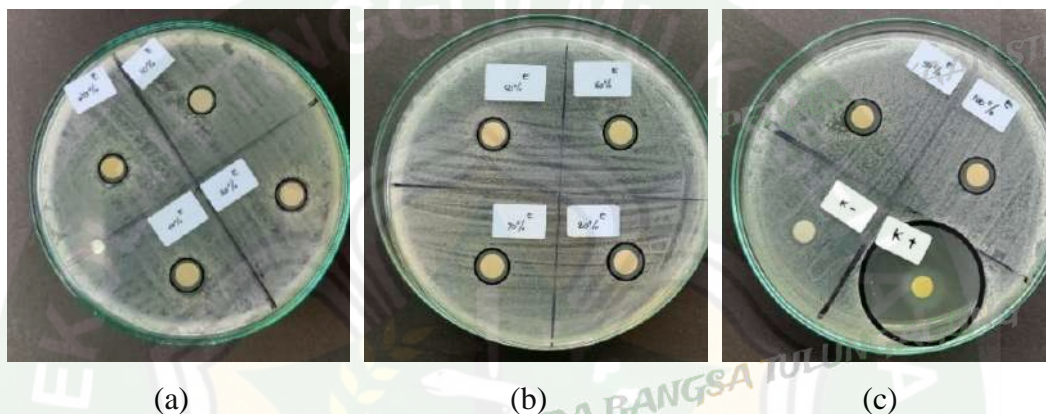
(c) Konsentrasi 90%-100%, Kontrol Positif, Kontrol Negatif.

**Tabel 4.3** Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak BWDS Terhadap Bakteri *E.Coli* ATCC 25922 Metode Kukus Suhu 90°C.

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi (mm)			$\bar{X} \pm SD$ (mm)	Sifat
		I	II	III		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10%	2,3	2,2	2,4	$2,3 \pm 0,1$	Lemah
	20%	2,2	2,6	2,4	$2,4 \pm 0,2$	Lemah
	30%	6,5	6,7	6,3	$6,5 \pm 0,2$	Sedang
	40%	6,5	6,5	6,5	$6,5 \pm 0$	Sedang
	50%	7,2	7,4	7,3	$7,3 \pm 0,1$	Sedang
	60%	7,4	7,6	7,5	$7,5 \pm 0,15$	Sedang
	70%	8,4	8,1	8,2	$8,2 \pm 0,1$	Sedang
	80%	8,3	8,5	8,4	$8,4 \pm 0$	Sedang
	90%	9,3	9,3	9,3	$9,3 \pm 0,1$	Sedang
	100%	9,6	9,5	9,4	$9,5 \pm 0$	Sedang
K-	100%	0	0	0		Tidak ada
Kloramfenikol	1%	28	28	28	$28 \pm 0$	Sangat Kuat



Pada tabel 4.3 pengujian bakteri *E.Coli* terdapat perbedaan respon hambat dibandingkan dengan pengujian yang menggunakan bakteri *S.Aureus* dimana pada konsentrasi 30% respon hambatnya sudah memasuki kategori sedang, sedangkan pada pengujian ke bakteri *S.Aureus* respon hambat sedang baru bisa di dapat pada konsentrasi 60%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh (Kulla, 2022) dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin tinggi.



**Gambar 4.8** Uji Aktivitas Antibakteri *E.coli* Metode Kukus Suhu 90°C

**Keterangan :** (a) Konsentrasi 10%-40%

(b) Konsentrasi 50%-80%

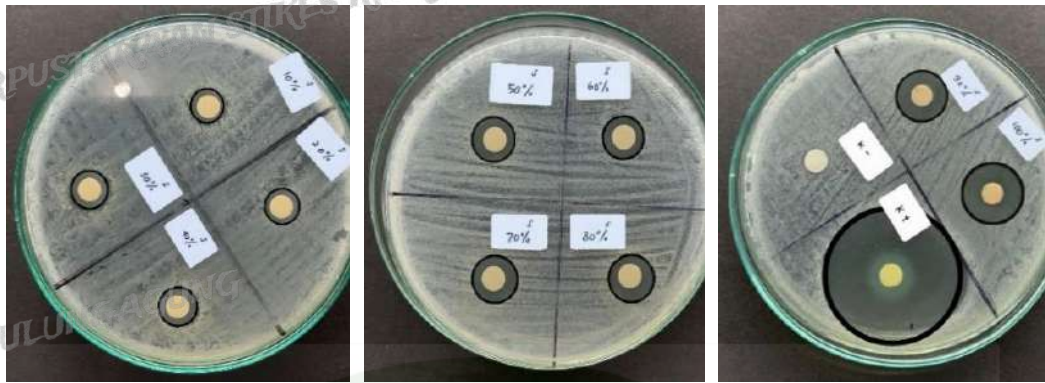
(c) Konsentrasi 90%-100%, Kontrol Positif, Kontrol Negatif.

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

**Tabel 4.4** Uji aktivitas antibakteri ekstrak BWDS terhadap bakteri *S.Aureus* ATCC 25923 metode rebus suhu 50°C.

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi (mm)			$\bar{X} \pm SD$ (mm)	Sifat
		I	II	III		
<i>Staphylococcus</i>	10%	3,2	3,3	3,2	3,2 ± 0,05	Lemah
<i>Aureus</i>	20%	4,1	4,3	4,3	4,2 ± 0,11	Lemah
ATCC 25923	30%	6,4	6,1	6,2	6,2 ± 0,15	Sedang
	40%	6,2	6,2	6,2	6,2 ± 0	Sedang
	50%	8,2	8,2	8,1	8,1 ± 0,05	Sedang
	60%	9,2	9,2	9,2	9,2 ± 0	Sedang
	70%	9,6	9,4	9,5	9,5 ± 0,1	Sedang
	80%	11,1	11,2	11,2	11,1 ± 0,05	Kuat
	90%	11,3	11,3	11,3	11,3 ± 2,17	Kuat
	100%	14,2	14,2	14,2	14,2 ± 2,17	Kuat
K-	100%	0	0	0	0	Tidak ada
Kloramfenikol	1%	27	28	28	28 ± 0,577	Sangat Kuat

Tabel 4.4 merupakan hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau terhadap bakteri *S.Aureus* dan dengan metode rebus suhu 50°C. Terlihat terdapat perbedaan nilai yang berbeda di masing-masing konsentrasi. Dari perbedaan nilai tersebut dapat disimpulkan bahwa tidak semua konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri yang kuat tapi terlepas dari itu dapat dikatakan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.Aureus*. Pada uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.Aureus* konsentrasi 10%-20% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori lemah. Pada konsentrasi 30%-70% termasuk dalam kategori sedang. Kemudian pada konsentrasi 80%-100% menunjukkan kategori yang kuat. Konsentrasi 100% yang memiliki nilai diameter zona hambat paling besar yaitu 14,2 mm, sedangkan untuk zona hambat yang paling kecil yaitu di konsentrasi 10% dengan nilai 3,2 mm.



(a)

(b)

(c)

**Gambar 4.9** Uji Aktivitas Antibakteri *S.Aureus* ATCC 25923 Metode Rebus Suhu 50°C.

**Keterangan :** (a) Konsentrasi 10%-40%

(b) Konsentrasi 50%-80%

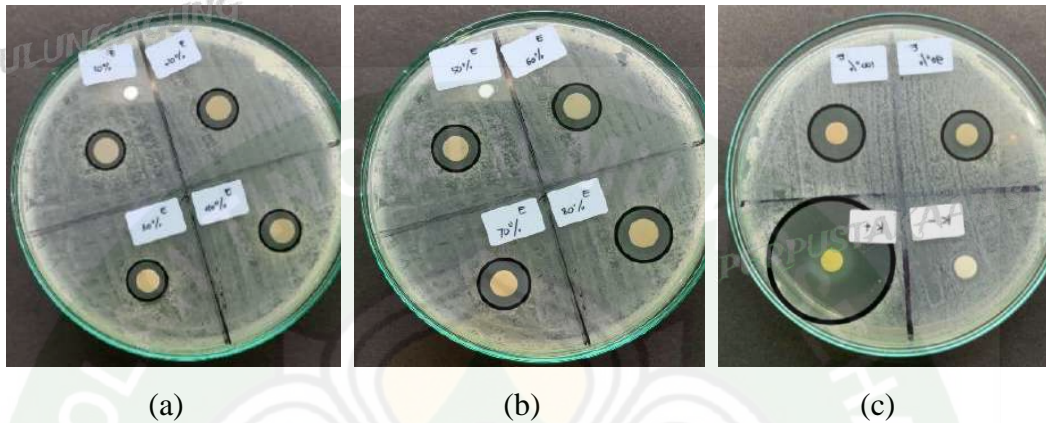
(c) Konsentrasi 90%-100%, Kontrol Positif, Kontrol Negatif.

**Tabel 4.5** Uji aktivitas antibakteri ekstrak BWDS terhadap bakteri *E.Coli* ATCC 25922 metode rebus suhu 50°C.

Bakteri	Konsentrasi	Replikasi (mm)			$\bar{X} \pm SD$ (mm)	Sifat
		I	II	III		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	10%	2	2,5	2	$2,1 \pm 0,22$	Sedang
	20%	3,3	3,3	3,1	$3,2 \pm 0,11$	Sedang
	30%	7,2	7,3	7,3	$7,3 \pm 0,05$	Sedang
	40%	7,4	7,5	7,4	$7,4 \pm 0,05$	Sedang
	50%	8,2	8,2	8,2	$8,2 \pm 0$	Sedang
	60%	8,3	8,3	8,2	$8,3 \pm 0,05$	Sedang
	70%	9,2	9,3	9,2	$9,1 \pm 0,05$	Sedang
	80%	9,6	9,4	9,5	$9,5 \pm 0,1$	Sedang
	90%	10,3	10,5	10,7	$10,5 \pm 0,2$	Sedang
	100%	11,3	11,6	11,4	$11,4 \pm 0,15$	Kuat
K-	100%	0	0	0	0	Tidak ada
Kloramfenikol	1%	27	28	28	$28 \pm 0,577$	Sangat Kuat

Tabel 4.5 pengujian terhadap bakteri *E.Coli* cukup memiliki nilai yang besar dibanding dengan metode kukus. Pada metode rebus pengujian terhadap bakteri

*E. Coli* bisa dikatakan cukup bagus, dapat dilihat dari nilai yang dihasilkan yaitu pada konsentrasi 10%-90% menunjukkan kategori sedang dengan nilai 2,1 – 10,5 mm. Pada konsentrasi 100% merupakan nilai tertinggi dengan nilai 11,4 mm yang dikategorikan dalam rentan yang kuat untuk digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. Coli*.



(a)

(b)

(c)

**Gambar 4.10** Uji Aktivitas Antibakteri *E. Coli* Metode Rebus Suhu 50°C

**Keterangan :** (a) Konsentrasi 10%-40%

(b) Konsentrasi 50%-80%

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

Ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih hijau sejak dulu memang sudah digunakan sebagai pengobatan tradisional. Kandungan yang terdapat didalamnya seperti senyawa saponin, tanin, flavonoid, terpenoid terbukti dapat digunakan sebagai antibakteri seperti bakteri *S. Aureus* dan *E. Coli*. Saponin merupakan senyawa yang mengandung molekul yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga mampu menurunkan tegangan pada permukaan sel dan permeabilitas membran menjadi rusak. Gangguan yang terjadi pada permukaan dinding sel dan permeabilitas membran sel akan menyebabkan kandungan antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel sehingga sel mengalami kematian (Sari *et al.*, 2017).

## 4.7 Analisis Data

### 4.7.2 *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*

Hasil pengamatan zona hambat pada bakteri *S.Aureus* ATTC 25923 dan *E.Coli* ATTC 25922 dilakukan di Kampus STIKes Karya Putra Bangsa, Laboratorium Mikrobiologi, Tulungagung. Uji aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan daun sirih (*piper betle*) menggunakan metode kukus dan rebus suhu 90°C dan 50°C pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Berdasarkan analisis data menggunakan SPSS, hasil dari sampel metode kukus suhu 90°C dan rebus 50°C menunjukkan data telah terdistribusi secara normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan nilai signifikan  $p > 0,05$  yang artinya data telah homogen. Selanjutnya dilakukan uji *one way anova*. Hasil uji *one way anova* menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ) pada rata-rata diameter zona hambat dengan nilai signifikan  $p = 0,000$ . Yang artinya terdapat pengaruh variasi terhadap pertumbuhan bakteri *S.Aureus* ATCC 25923 dan *E.Coli* 25922. Pengujian selanjutnya dilanjutkan dengan uji *Duncan* untuk mengetahui perbedaan diantara semua sampel.

Berdasarkan tabel uji *Duncan* metode kukus suhu 90°C dan rebus suhu 50°C pada bakteri *S.Aureus* ATTC 25923 dan *E.Coli* ATCC 25922 Perlakuan kontrol positif berbeda nyata dengan konsentrasi 10%-100% dan kontrol negatif. Namun, pada tabel uji *Duncan* metode kukus suhu 90°C terhadap bakteri *S.Aureus* konsentrasi 30%-40% tidak adanya perbedaan yang signifikan. Pada bakteri *E.Coli* hasil yang tidak berbeda signifikan terdapat pada konsentrasi 10%-20%, 30%-40%, 50%-60%, 70%-80%, dan 90%-100%. Sedangkan pada tabel uji *Duncan* metode kukus suhu 50°C terhadap bakteri *S.Aureus* konsentrasi 30%-40%, 60%-70%, dan 80%-90%, tidak adanya perbedaan yang signifikan. Pada bakteri *E.Coli* hasil yang tidak adanya perbedaan yang signifikan terdapat pada konsentrasi 30%-40%, 50%-60%, dan 70%-80%. Tidak adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan dapat disebabkan oleh kecilnya perbedaan konsentrasi antara perlakuan. Konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang cukup mendekati kontrol positif dibandingkan

dengan konsentrasi dibawah 100%. 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).

Dari tabel hasil uji aktivitas antibakteri dan tabel *Duncan*, pengambilan ekstrak menggunakan metode rebus terhadap bakteri *S.Aureus* ATTC 25923 dan *E.Coli* ATCC 25922 menghasilkan zona hambat yang lebih luas dibandingkan menggunakan metode kukus. Hal ini disebabkan karena pada saat proses pengambilan ekstrak dengan menggunakan metode rebus pelarut berinteraksi langsung dengan sampel sehingga kandungan senyawa flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid larut sempurna dalam pelarut. Sedangkan pada metode kukus pada saat proses pengukusan pelarut tidak berinteraksi langsung dengan sampel dan suhu yang digunakan terlalu tinggi pada saat proses pengukusan sehingga, kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan alkaloid tidak dapat larut sempurna dan rusak (Yuliantari *et al.*, 2017).

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

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

1. Variasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan metode kukus memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.Aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 100% sebesar 11,4 mm termasuk kategori zona hambat yang kuat dan *E.Coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 100% sebesar 9,5 mm termasuk kategori zona hambat yang sedang.
2. Variasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih dengan metode rebus memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.Aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 100% sebesar 14,2 mm termasuk kategori zona hambat yang kuat dan *E.Coli* ATCC 25922 pada konsentrasi 100% 11,4 mm termasuk kategori zona hambat yang kuat.
3. Metode hidroekstraksi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih belum efektif dalam menghambat bakteri *S.Aureus* ATCC 25923 dan *E.Coli* ATCC 25922.

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik saran sebagai berikut:

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

## DAFTAR PUSTAKA

- Andries, J. R., Gunawan, P. N., & Supit, A. (2014). Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro.
- Afifi, R., Erlin, E., & Rachmawati, J. (2018). Uji anti bakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap zona hambat bakteri jerawat *Propionibacterium acnes* secara in vitro. *Quagga : Jurnal Pendidikan Dan Biologi*.
- Antibakteri, U. J. I. A. (2015). uin syarif hidayatullah jakarta uji aktivitas antibakteri senyawa-senyawa hasil modifikasi struktur etil p-metoksisinamat melalui reaksi esterifikasi terhadap bakteri gram negatif dan gram positif.
- Arlofa, N. (2015). Uji Kandungan Senyawa Fitokimia Kulit Durian sebagai Bahan Aktif Pembuatan Sabun. *Jurnal Chemtech*.
- Azizah, Z., & Widya Wati, S. (2018). Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Farmasi Higea*.
- Bakhtra, D. D. A., Eriadi, A., & Putri, S. R. (2020). Skrining Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). *Jurnal Farmasi Higea*.
- Budidaya, I. P. (2016). *Hidroekstraksi daun ketapang ( Terminalia catappa L. ) sebagai pengendali penyakit*.
- Charisma, S. (2020). *Uji aktivitas antibakteri fraksi ekstrak daun eceng gondok (*
- Chrisnandari, R. D. (2018). Sintesis dan Karakterisasi Molecularly Imprinted Polymer Untuk Kloramfenikol Menggunakan Polimerisasi Fasa Ruah. *Journal of Pharmacy and Science*.
- Christabel, P. F., Hernando, M. V., Sutanto, C. A., & Parisihni, K. (2019). Exploration of *Chlorella* sp. as antibacterial to *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* biofilm. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Damayanti, N., & Setyaningsih, E. (2021, October). Gambaran Efektivitas Larvasida Kombinasi daun Sirih dan Sirsak pada Perbandingan 1: 2 dan 2: 1



dengan Konsentrasi 0, 3% dan 0, 9% terhadap Mortalitas Larva Nyamuk. In *Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek)* (pp. 588-592).

Dofianti, H., & Yuniwati, M. (2018). Pembuatan serbuk pewarna alami tekstil dari ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* Linn. F.) Metode foam-mat drying dengan pelarut aquades Hanifa. *Jurnal Inovasi Proses*.

Dwicahyani, T., Sumardianto, S., & Rianingsih, L. (2018). Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*.

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*.

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

Fathoni, D. S., Fadhillah, I., & Kaavessina, M. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Sebagai Bahan Aktif Antibakteri Dalam Gel Hand Sanitizer Non-Alkohol. *Equilibrium Journal of Chemical Engineering*.

Febriza, M. A., Adrian, Q. J., & Sucipto, A. (2021). Penerapan Ar Dalam Media Pembelajaran Klasifikasi Bakteri. *Jurnal BIOEDUIN: Program Studi Pendidikan Biologi*.

Fione, V. R., & Karamoy, Y. (n.d.). uji efektivitas anti bakteri ekstrak dan fraksi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L) pada bakteri isolat plak gigi (*in vivo*) antibacterial effectiveness extract and fraction of purple sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L) on bacteria isolates of dental .

Firdayani, F., & Winarni Agustini, T. (2015). Ekstraksi Senyawa Bioaktif sebagai Antioksidan Alami *Spirulina Platensis* Segar dengan Pelarut yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*.

Fuadi, S. (2014). Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* In Vitro.

Handayani, F. W., & Muhtadi, A. (2013). Penentuan Tingkatan Jaminan Sterilitas Pada Autoklaf Dengan Indikator Biologi Spore Strip. *Farmaka*.

- Harefa, D. (2020). Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). *Madani : Indonesian Journal of Civil Society*.
- 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*.
- Helda, Y., Harpeni, E., & Supono. (2018). Aplikasi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) terhadap Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Terinfeksi Penyakit White Feces Disease (WFD). *Jurnal Sains Teknologi Akuakultur*, 2(Vol 2, No 2 (2018)).
- Hidayati, S. N. (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. *Jurnal Medika Veterinaria*.
- Husna, C. A. (2018). Peranan Protein Adhesi Matriks Ekstraselular Dalam Patogenitas Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *AVERROUS: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Indratmoko, S., Vegga Dwi Fadilla, & Lulu Setiyabudi. (2021). Optimasi Formula Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus Aureus*. *Pharmaqueous : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*.
- Insan, R. R., Faridah, A., Yulastri, A., & Holinesti, R. (2019). Using Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) As A Functional Food Processing Product. *Jurnal Pendidikan Tata Boga Dan Teknologi*.
- Kelompok, p., tani, w., sari, p., bogor, k., upaya, d., nilai, p., jannah, a., fitriani, a., humaira, l., rosiana, a., rizki, f. h., & febriyanti, p. r. (2022). *produk tanaman obat keluarga kwt puspa sari krpl tingkat nasional . selain itu , kwt*.
- Khotimah, H., Anggraeni, E. W., & Setianingsih, A. (2018). Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi. *Jurnal Chemurgy*, 1(2).
- 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)*.

Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S., & Sudewi, S. (2015). Aktifitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata *Polycarpa Aurata*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*.

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

L, I. A., Prenggono, M. D., & Budiarti, L. Y. (2015). Tangan Perawat Di Bangsal Penyakit Dalam RSUD Ulin Banjarmasin Periode Juni-Agustus 2014. *Berkala Kedokteran*.

Lestari Dewi, ni ketut, Jamhari, M., & Isnainar. (2017). Kajian Pemanfaatan Tanaman Sebagai Obat Tradisional Di Desa Tolai Kecamatan Torue Kabupaten Parigi Moutong. *Kajian Pemanfaatan Tanaman Sebagai Obat Tradisional Di Desa Tolai Kecamatan Torue Kabupaten Parigi Moutong*.

Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. (2012). Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal MIPA*.

Manarisip, G. E., Rotinsulu, H., & Fatimawali. (2020). Standardization Of Green Betel Leaf Extracts ( *Piper betle* L .) and Antibacterial Test Against *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharmakon-Program Studi Farmasi*, 9(November).

Marbun, R. W. S. (2020). pemanfaatan sari ubi jalar ungu (*ipomoea batatas* poiret) sebagai zat pewarna pada pewarnaan gram terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*. *Klinikal Sains : Jurnal Analisis Kesehatan*.

Maryam, S., Juniasti, S., & Kosman, R. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 7(1), 60–69.

Misna, & Diana, K. (2016). *Aktivitas Bakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah ( Allium cepa L .) Terhadap Bakteri S.Aureus Antibacterial Activity Extract Of Garlic ( Allium cepa L .) Skin Against S.Aureus*.

Nilda, C. (2019). Ekstraksi senyawa bio-aktif pada beberapa rempah ie Bu Peudah. In *Prosiding Seminar Nasional Politeknik Negeri Lhokseumawe* (Vol. 3, No. 1, p. 78).

- Noer, S., Pratiwi, R. D., & Gresinta, E. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Eksakta*.
- 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*.
- Pakaya, Y. T., Olii, A. H., & Nursinar, S. (2014). Pemanfaatan belimbing wuluh sebagai pengawet alami pada ikan teri asin kering. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*.
- Putra I Wayan Dwika Pratama, Dharmayudha Anak Agung Gde Oka, S. L. M. (2017). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*.
- Putri, A. K., Satwika, Q. E., Sulistyana, Y., & Arindias, Z. (2019). Studi morfologi *Piper betle* L. dan pemanfaatannya dalam kehidupan sehari – hari. *Universitas Sebelas Maret*.
- Putriana, A. (2018). Ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L) Sebagai Ovisida Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.). *Skripsi Pencemaran Lingkungan*.
- 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.
- Rahmawati, I. F., Pribadi, P., & Hidayat, I. W. (2016). Formulasi dan evaluasi granul effervescent ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.). *Pharmaciana*.
- Redha, A. (2010). Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Berlin*.
- Retnowati, yuliana., dkk. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculate*), *Jurnal saintek*, Volume 6, Nomor 2
- Riawenni, S. (2017). *Aktivitas Antibakteri Krim Antijerawat yang Mengandung Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Terhadap Propionibacterium Acne*.

Rijayanti, R. P. (2014). In vitro Antibacterial Activity test Of Ethanol Extracts Bacang mango (*Mangifera foetida* L.) Leaves Against *Staphylococcus aureus*. *Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura*.

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*.

Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., Windria, S., Program, M., Kedokteran, S., Mikrobiologi, D., Ilmu, D., Dasar, K., Kedokteran, F., Padjadjaran, U., & Barat, J. (2022). *Kajian Potensi Daun Sirih Hijau ( Piper betle L ) sebagai Antibakteri A Review of Green Betel Leaf ( Piper betle L ) Potency as Antibacterial*.

Samirana, P. O., Swastini, D. A., Ardinata, I. P. R., & Suarka, I. P. S. D. (2017). Penentuan profil kandungan kimia ekstrak etanol daun binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 23.

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*.

Septiana., Nurjanah, N., Anwar, E., & Pratama, G. (2017). Kandungan senyawa penangkal sinar ultra violet dari ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Turbinaria conoides*. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*

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*.

Siregar, A. H. (2017). Pembuatan Zat Warna Alam Dari Tumbuhan Berasal Dari Daun. *Bina Teknika*.

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

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

*Cendekia Eksakta.*

- Suriawati, J., Rachmawati, R., Analisa, J., Kesehatan, P., Jakarta, K., Raya, J., No, R., Minggu, P., & Selatan, J. (2018). *antibacterial activities test of combination of ethanolic extract of betel leaves ( piper betle l .) and basil leaves ( Ocimum basilicum L .) against s.aureus ( piper betle l .) dan daun kemangi ( ocimum basilicum l .) terhadap Staphylococcus.*
- Suryowinoto, M., & Van Steenis, C. G. G. . (2008). *Flora : untuk sekolah di Indonesia / C.G.G.J. Van Steenis diterjemahkan oleh Moeso Suryowinoto.*
- Sutiknowati, L. I. (2016). "Bioindikator Pencemar, Bakteri Escherichia coli." *Jurnal Oseana*, 41(4), 63–71. oseanografi.lipi.go.id
- Ulfa, R. (2021). Variabel penelitian dalam penelitian pendidikan. *Al-Fathonah: Jurnal Pendidikan Dan Keislaman.*
- 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.*
- Widhorini, W., & Rafianti, R. (2019). uji daya hambat ekstrak bawang merah (allium cepa l.) terhadap pertumbuhan salmonella typhi) pada media nutrient agar (NA). *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi.*
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., Mulyati, S., & Artikel, I. (2014). Transformasi  $\alpha$ -Pinena dengan Bakteri Pseudomonas aeruginosa ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education.*
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan daun sirsak (Annona muricata L.) menggunakan ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan.*
- 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.*

# 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/ 467/ 102.20-A/ 2022  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Belimbing Wuluh**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : WINDU HANDARU  
NIM : 1913206046  
Fakultas : S1 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); blingbing 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, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 04 Juli 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU

*(Signature)*  
ACHMAD MABRUR, 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/ 466/ 102.20-A/ 2022  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Sirih Hijau**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : WINDU HANDARU  
NIM : 1913206046  
Fakultas : S1 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, 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, 04 Juli 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL  
MATERIA MEDICA BATU



**ACHMAD MABRUR, SKM, M.Kes.**  
PEMBINA  
NIP. 19680203 199203 1 004

### Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Penimbangan Belimbing wuluh



Penimbangan daun sirih



Perajangan Belimbing Wuluh



Perajangan Daun Sirih



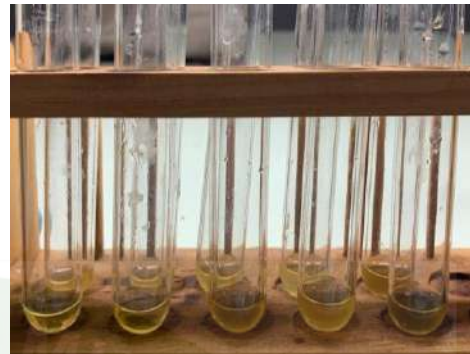
Proses Penyaringan



Pembuatan Variasi Konsentrasi



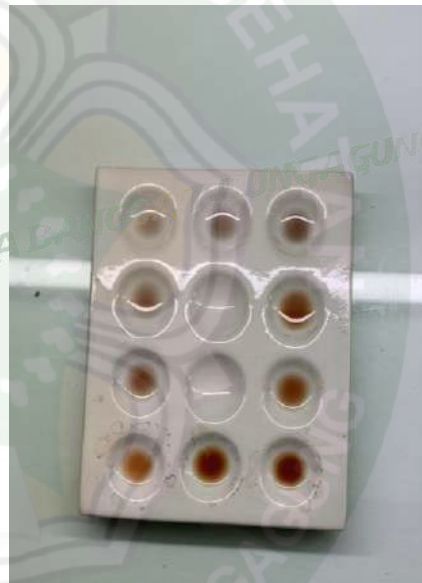
Uji Flavonoid



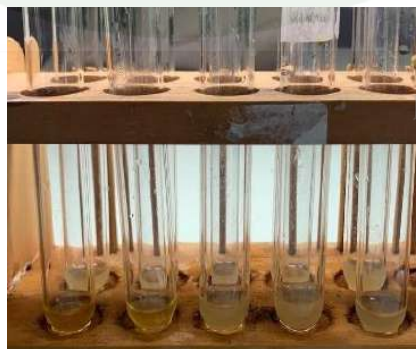
Uji Tanin



Uji Saponin



Uji Terpenoid



Uji Alakaloid

## Lampiran 4. Surat Pernyataan Penanganan Mikroorganism

### SURAT PERNYATAAN PENANGANAN MIKROORGANISME

SAYA YANG BERTANDA TANGAN DIBAWAH INI :

NAMA : Windu Handaru

ALAMAT : Ds. Pelem, Kec. Campurdarat, 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



(Windu Handaru)

SAKSI\*\*

Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

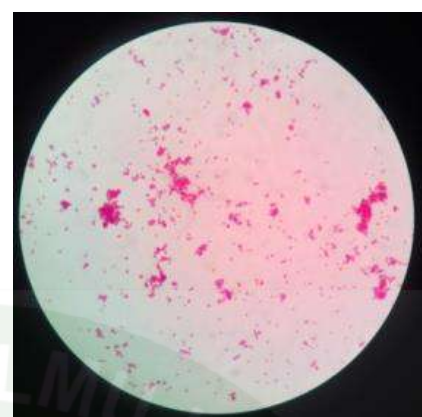


(apt. Dara Pramiya Tilarso., M.Farm.)

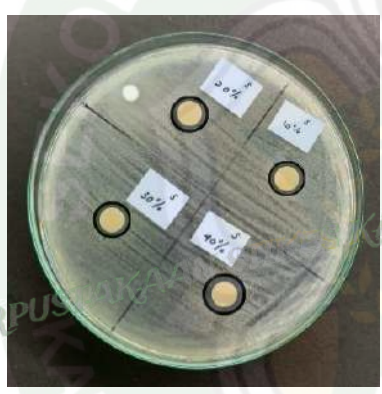
Keterangan :

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

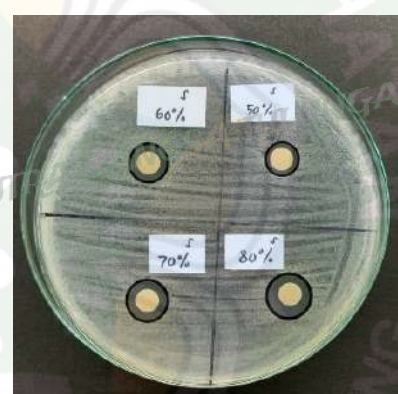
### Identifikasi Bakteri *E.Coli* & *Staphylococcus aureus*



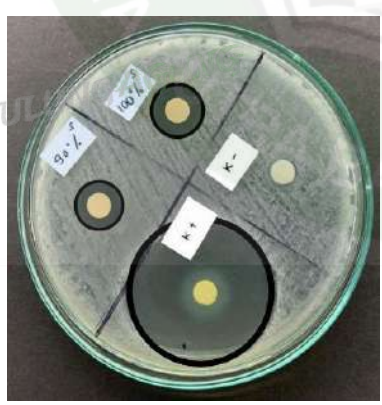
### Uji Aktivitas Antibakteri *E.Coli* Metode Kukus 90°C



Konsentrasi 10%-40%



Konsentrasi 50%-80%

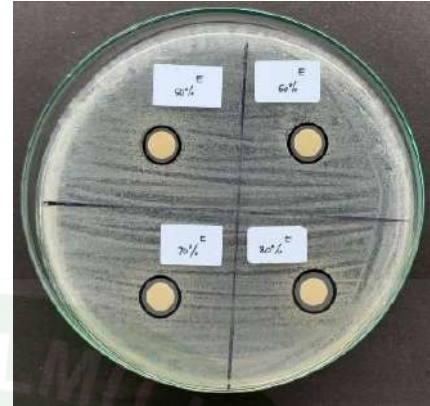


Konsentrasi 90%, 100%, K+, K-

### Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Metode Kukus 90°C



Konsentrasi 10%-40%

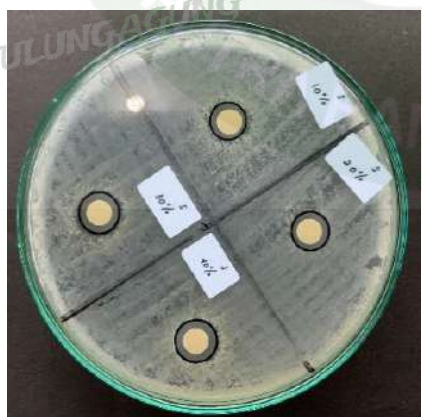


Konsentrasi 50%-80%

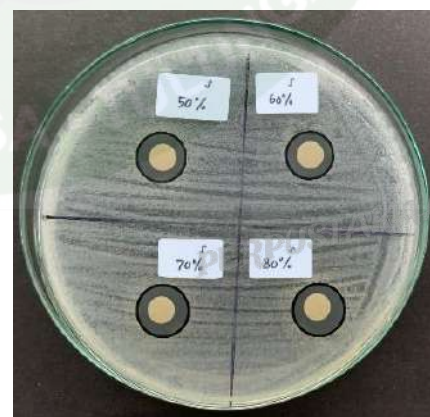


Konsentrasi 90%, 100%, K+, K-

### Uji Aktivitas Antibakteri *E.Coli* Metode Rebus 50°C



Konsentrasi 10%-40%

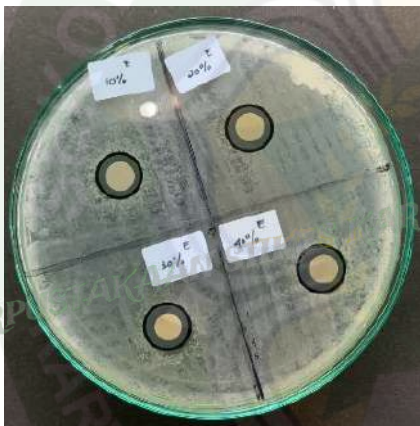


Konsentrasi 50%-80%

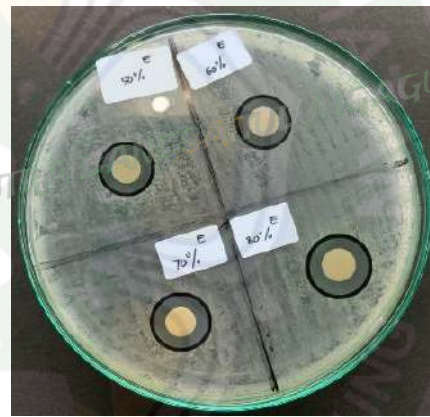


Konsentrasi 90%, 100%, K+, K-

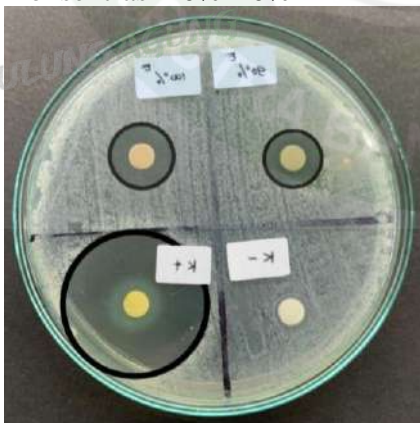
Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* Metode Kukus 90°C



Konsentrasi 10%-40%



Konsentrasi 50%-80%



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

## Lampiran 5. Perhitungan Bahan

### 1. Perhitungan Konsentrasi

Stok = 30 : 15 mg/mL (100%)

#### a. Konsentrasi 100%

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

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

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

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

#### b. Konsentrasi 90%

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

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

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

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

#### c. Konsentrasi 80%

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

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

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

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

#### d. Konsentrasi 70%

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

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

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

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

#### e. Konsentrasi 60%

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

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

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



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

f. Konsentrasi 50%

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

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

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

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

g. Konsentrasi 40%

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

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

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

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

h. Konsentrasi 30%

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

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

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

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

i. Konsentrasi 20%

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

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

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

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

j. Konsentrasi 10%

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

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

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

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

## 2. Perhitungan Media

### a. Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

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

### b. Pembuatan Media *Nutrient agar* (NA)

$$\begin{aligned}\text{Bobot NA} &= \frac{BM}{1000} \times \text{Volume} \\ &= \frac{20}{1000} \times 120 \text{ mL} = 2,4 \text{ gr}\end{aligned}$$

## 3. Perhitungan Kloramfenikol

Kontrol positif menggunakan konsentrasi 10 $\mu$ g/mL kloramfenikol dibuat dalam mL aquadest

$$0,01 \text{ mg} / 10 \text{ mL}$$

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

$$\frac{1000 \text{ mg}}{\text{DL } 500 \text{ mg}} = \frac{\mu}{584 \text{ mg (rata-rata berat kloramfenikol)}}$$

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

$$\mu = \frac{1000 \text{ mg} \times 584 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} = 1,168 \text{ mg}$$

$$\mu = \frac{1,168 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = 11,68 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Rumus pengenceran : } V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Diketahui :

$$V_1 = ?$$

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

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

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

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

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

$$V_1 = \frac{0,1}{11,68} = 0,0086 \text{ mL add aquadest } 10 \text{ mL}$$

## Lampiran 6. Analisis Hasil

### 1. Uji Normalitas *Staphylococcus aureus* metode kukus 90°C

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
N		36	36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6.50	8.0889
	Std. Deviation	3.501	6.96267
Most Extreme Differences	Absolute	.096	.214
	Positive	.096	.214
	Negative	-.096	-.123
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	1.285
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.074

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

### 2. Uji Homogenitas *Staphylococcus aureus* metode kukus 90°C

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.036	11	24	.070

### 3. Uji One Way Anova *Staphylococcus aureus* metode kukus 90°C

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1723.490	11	156.681	35253.199	.000
Within Groups	.107	24	.004		
Total	1723.596	35			

### 4. Uji LSD *Staphylococcus aureus* metode kukus 90°C

Multiple Comparisons
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

(I) Variasi Konsent rasi	(J) Variasi Konsentra si	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
L S D	Konsentra si 20%	-.40000*	.05443	.000	-.5123	-.2877
	Konsentra si 30%	-2.40000*	.05443	.000	-2.5123	-2.2877
	Konsentra si 40%	-2.46667*	.05443	.000	-2.5790	-2.3543
	Konsentra si 50%	-3.10000*	.05443	.000	-3.2123	-2.9877
	Konsentra si 60%	-4.00000*	.05443	.000	-4.1123	-3.8877
	Konsentra si 70%	-4.16667*	.05443	.000	-4.2790	-4.0543
	Konsentra si 80%	-6.16667*	.05443	.000	-6.2790	-6.0543
	Konsentra si 90%	-7.06667*	.05443	.000	-7.1790	-6.9543
	Konsentra si 100%	-9.20000*	.05443	.000	-9.3123	-9.0877
	Kontrol Positif	-25.90000*	.05443	.000	-26.0123	-25.7877
	Kontrol Negatif	2.10000*	.05443	.000	1.9877	2.2123
Konsent rasi 20%	Konsentra si 10%	.40000*	.05443	.000	.2877	.5123
	Konsentra si 30%	-2.00000*	.05443	.000	-2.1123	-1.8877
	Konsentra si 40%	-2.06667*	.05443	.000	-2.1790	-1.9543
	Konsentra si 50%	-2.70000*	.05443	.000	-2.8123	-2.5877
	Konsentra si 60%	-3.60000*	.05443	.000	-3.7123	-3.4877
	Konsentra si 70%	-3.76667*	.05443	.000	-3.8790	-3.6543
	Konsentra si 80%	-5.76667*	.05443	.000	-5.8790	-5.6543

	Konsentrasi 90%	-6.66667*	.05443	.000	-6.7790	-6.5543
	Konsentrasi 100%	-8.80000*	.05443	.000	-8.9123	-8.6877
	Kontrol Positif	-25.50000*	.05443	.000	-25.6123	-25.3877
	Kontrol Negatif	2.50000*	.05443	.000	2.3877	2.6123
Konsentrasi 30%	Konsentrasi 10%	2.40000*	.05443	.000	2.2877	2.5123
	Konsentrasi 20%	2.00000*	.05443	.000	1.8877	2.1123
	Konsentrasi 40%	-.06667	.05443	.233	-.1790	.0457
	Konsentrasi 50%	-.70000*	.05443	.000	-.8123	-.5877
	Konsentrasi 60%	-1.60000*	.05443	.000	-1.7123	-1.4877
	Konsentrasi 70%	-1.76667*	.05443	.000	-1.8790	-1.6543
	Konsentrasi 80%	-3.76667*	.05443	.000	-3.8790	-3.6543
	Konsentrasi 90%	-4.66667*	.05443	.000	-4.7790	-4.5543
	Konsentrasi 100%	-6.80000*	.05443	.000	-6.9123	-6.6877
		Kontrol Positif	-23.50000*	.05443	.000	-23.6123
	Kontrol Negatif	4.50000*	.05443	.000	4.3877	4.6123
Konsentrasi 40%	Konsentrasi 10%	2.46667*	.05443	.000	2.3543	2.5790
	Konsentrasi 20%	2.06667*	.05443	.000	1.9543	2.1790
	Konsentrasi 30%	.06667	.05443	.233	-.0457	.1790
	Konsentrasi 50%	-.63333*	.05443	.000	-.7457	-.5210
	Konsentrasi 60%	-1.53333*	.05443	.000	-1.6457	-1.4210

	Konsentra si 70%	-1.70000*	.05443	.000	-1.8123	-1.5877
	Konsentra si 80%	-3.70000*	.05443	.000	-3.8123	-3.5877
	Konsentra si 90%	-4.60000*	.05443	.000	-4.7123	-4.4877
	Konsentra si 100%	-6.73333*	.05443	.000	-6.8457	-6.6210
	Kontrol Positif	-23.43333*	.05443	.000	-23.5457	-23.3210
	Kontrol Negatif	4.56667*	.05443	.000	4.4543	4.6790
Konsent rasi 50%	Konsentra si 10%	3.10000*	.05443	.000	2.9877	3.2123
	Konsentra si 20%	2.70000*	.05443	.000	2.5877	2.8123
	Konsentra si 30%	.70000*	.05443	.000	.5877	.8123
	Konsentra si 40%	.63333*	.05443	.000	.5210	.7457
	Konsentra si 60%	-.90000*	.05443	.000	-1.0123	-.7877
	Konsentra si 70%	-1.06667*	.05443	.000	-1.1790	-.9543
	Konsentra si 80%	-3.06667*	.05443	.000	-3.1790	-2.9543
	Konsentra si 90%	-3.96667*	.05443	.000	-4.0790	-3.8543
	Konsentra si 100%	-6.10000*	.05443	.000	-6.2123	-5.9877
	Kontrol Positif	-22.80000*	.05443	.000	-22.9123	-22.6877
	Kontrol Negatif	5.20000*	.05443	.000	5.0877	5.3123
	Konsent rasi 60%	Konsentra si 10%	4.00000*	.05443	.000	3.8877
Konsentra si 20%		3.60000*	.05443	.000	3.4877	3.7123
Konsentra si 30%		1.60000*	.05443	.000	1.4877	1.7123

	Konsentrasi 40%	1.53333*	.05443	.000	1.4210	1.6457
	Konsentrasi 50%	.90000*	.05443	.000	.7877	1.0123
	Konsentrasi 70%	-1.16667*	.05443	.005	-.2790	-.0543
	Konsentrasi 80%	-2.16667*	.05443	.000	-2.2790	-2.0543
	Konsentrasi 90%	-3.06667*	.05443	.000	-3.1790	-2.9543
	Konsentrasi 100%	-5.20000*	.05443	.000	-5.3123	-5.0877
	Kontrol Positif	-21.90000*	.05443	.000	-22.0123	-21.7877
	Kontrol Negatif	6.10000*	.05443	.000	5.9877	6.2123
Konsentrasi 70%	Konsentrasi 10%	4.16667*	.05443	.000	4.0543	4.2790
	Konsentrasi 20%	3.76667*	.05443	.000	3.6543	3.8790
	Konsentrasi 30%	1.76667*	.05443	.000	1.6543	1.8790
	Konsentrasi 40%	1.70000*	.05443	.000	1.5877	1.8123
	Konsentrasi 50%	1.06667*	.05443	.000	.9543	1.1790
	Konsentrasi 60%	.16667*	.05443	.005	.0543	.2790
	Konsentrasi 80%	-2.00000*	.05443	.000	-2.1123	-1.8877
	Konsentrasi 90%	-2.90000*	.05443	.000	-3.0123	-2.7877
	Konsentrasi 100%	-5.03333*	.05443	.000	-5.1457	-4.9210
	Kontrol Positif	-21.73333*	.05443	.000	-21.8457	-21.6210
Kontrol Negatif	6.26667*	.05443	.000	6.1543	6.3790	
Konsentrasi 80%	Konsentrasi 10%	6.16667*	.05443	.000	6.0543	6.2790

	Konsentrasi 20%	5.76667*	.05443	.000	5.6543	5.8790
	Konsentrasi 30%	3.76667*	.05443	.000	3.6543	3.8790
	Konsentrasi 40%	3.70000*	.05443	.000	3.5877	3.8123
	Konsentrasi 50%	3.06667*	.05443	.000	2.9543	3.1790
	Konsentrasi 60%	2.16667*	.05443	.000	2.0543	2.2790
	Konsentrasi 70%	2.00000*	.05443	.000	1.8877	2.1123
	Konsentrasi 90%	-.90000*	.05443	.000	-1.0123	-.7877
	Konsentrasi 100%	-3.03333*	.05443	.000	-3.1457	-2.9210
	Kontrol Positif	-19.73333*	.05443	.000	-19.8457	-19.6210
	Kontrol Negatif	8.26667*	.05443	.000	8.1543	8.3790
Konsentrasi 90%	Konsentrasi 10%	7.06667*	.05443	.000	6.9543	7.1790
	Konsentrasi 20%	6.66667*	.05443	.000	6.5543	6.7790
	Konsentrasi 30%	4.66667*	.05443	.000	4.5543	4.7790
	Konsentrasi 40%	4.60000*	.05443	.000	4.4877	4.7123
	Konsentrasi 50%	3.96667*	.05443	.000	3.8543	4.0790
	Konsentrasi 60%	3.06667*	.05443	.000	2.9543	3.1790
	Konsentrasi 70%	2.90000*	.05443	.000	2.7877	3.0123
	Konsentrasi 80%	.90000*	.05443	.000	.7877	1.0123
	Konsentrasi 100%	-2.13333*	.05443	.000	-2.2457	-2.0210
		Kontrol Positif	-18.83333*	.05443	.000	-18.9457



Konsentrasi 100%	Kontrol Negatif	9.16667*	.05443	.000	9.0543	9.2790
	Konsentrasi 10%	9.20000*	.05443	.000	9.0877	9.3123
	Konsentrasi 20%	8.80000*	.05443	.000	8.6877	8.9123
	Konsentrasi 30%	6.80000*	.05443	.000	6.6877	6.9123
	Konsentrasi 40%	6.73333*	.05443	.000	6.6210	6.8457
	Konsentrasi 50%	6.10000*	.05443	.000	5.9877	6.2123
	Konsentrasi 60%	5.20000*	.05443	.000	5.0877	5.3123
	Konsentrasi 70%	5.03333*	.05443	.000	4.9210	5.1457
	Konsentrasi 80%	3.03333*	.05443	.000	2.9210	3.1457
	Konsentrasi 90%	2.13333*	.05443	.000	2.0210	2.2457
	Kontrol Positif	-16.70000*	.05443	.000	-16.8123	-16.5877
	Kontrol Negatif	11.30000*	.05443	.000	11.1877	11.4123
Kontrol Positif	Konsentrasi 10%	25.90000*	.05443	.000	25.7877	26.0123
	Konsentrasi 20%	25.50000*	.05443	.000	25.3877	25.6123
	Konsentrasi 30%	23.50000*	.05443	.000	23.3877	23.6123
	Konsentrasi 40%	23.43333*	.05443	.000	23.3210	23.5457
	Konsentrasi 50%	22.80000*	.05443	.000	22.6877	22.9123
	Konsentrasi 60%	21.90000*	.05443	.000	21.7877	22.0123
	Konsentrasi 70%	21.73333*	.05443	.000	21.6210	21.8457
	Konsentrasi 80%	19.73333*	.05443	.000	19.6210	19.8457

Kontrol Negatif	Konsentrasi 90%	18.83333*	.05443	.000	18.7210	18.9457
	Konsentrasi 100%	16.70000*	.05443	.000	16.5877	16.8123
	Kontrol Negatif	28.00000*	.05443	.000	27.8877	28.1123
	Konsentrasi 10%	-2.10000*	.05443	.000	-2.2123	-1.9877
	Konsentrasi 20%	-2.50000*	.05443	.000	-2.6123	-2.3877
	Konsentrasi 30%	-4.50000*	.05443	.000	-4.6123	-4.3877
	Konsentrasi 40%	-4.56667*	.05443	.000	-4.6790	-4.4543
	Konsentrasi 50%	-5.20000*	.05443	.000	-5.3123	-5.0877
	Konsentrasi 60%	-6.10000*	.05443	.000	-6.2123	-5.9877
	Konsentrasi 70%	-6.26667*	.05443	.000	-6.3790	-6.1543
	Konsentrasi 80%	-8.26667*	.05443	.000	-8.3790	-8.1543
	Konsentrasi 90%	-9.16667*	.05443	.000	-9.2790	-9.0543
	Konsentrasi 100%	-11.30000*	.05443	.000	-11.4123	-11.1877
	Kontrol Positif	-28.00000*	.05443	.000	-28.1123	-27.8877

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

5. Uji Duncan *Staphylococcus aureus* metode kukus 90°C

Diameter Zona Hambat													
	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Duncan <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	.0000										

Konse ntrasi 10%	3		2.10 00									
Konse ntrasi 20%	3			2.50 00								
Konse ntrasi 30%	3				4.50 00							
Konse ntrasi 40%	3				4.56 67							
Konse ntrasi 50%	3					5.20 00						
Konse ntrasi 60%	3						6.10 00					
Konse ntrasi 70%	3							6.26 67				
Konse ntrasi 80%	3								8.266 7			
Konse ntrasi 90%	3									9.16 67		
Konse ntrasi 100%	3										11.30 00	
Kontro l Positif	3											28.0 000
Sig.		1.00 0	1.00 0	1.00 0	.233	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.000	1.00 0	1.000	1.00 0
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.												
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.												

6. Uji Normalitas *Staphylococcus aureus* metode rebus 50°C

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
N		36	36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6.50	7.9044
	Std. Deviation	3.501	4.08630
Most Extreme Differences	Absolute	.096	.194
	Positive	.096	.109
	Negative	-.096	-.194
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	1.165
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.133

7. Uji Homogenitas *Staphylococcus aureus* metode rebus 50°C

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.353	11	24	.236

8. Uji One Way Anova *Staphylococcus aureus* metode rebus 50°C

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	580.822	11	52.802	351.837	.000
Within Groups	3.602	24	.150		
Total	584.423	35			

9. Uji LDS *Staphylococcus aureus* metode rebus 50°C

Multiple Comparisons
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

	(I) Variasi Konsent rasi	(J) Variasi Konsent rasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Si g.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
L S D	Konsent rasi 10%	Konsent rasi 20%	-1.62333*	.31631	.000	-2.2762	-.9705
		Konsent rasi 30%	-5.90000*	.31631	.000	-6.5528	-5.2472
		Konsent rasi 40%	-6.10000*	.31631	.000	-6.7528	-5.4472
		Konsent rasi 50%	-6.95667*	.31631	.000	-7.6095	-6.3038
		Konsent rasi 60%	-7.90000*	.31631	.000	-8.5528	-7.2472
		Konsent rasi 70%	-8.03333*	.31631	.000	-8.6862	-7.3805
		Konsent rasi 80%	-8.99333*	.31631	.000	-9.6462	-8.3405
		Konsent rasi 90%	-9.14667*	.31631	.000	-9.7995	-8.4938
		Konsent rasi 100%	-9.79000*	.31631	.000	-10.4428	-9.1372
		Kontrol Positif	-12.22333*	.31631	.000	-12.8762	-11.5705
		Kontrol Negatif	1.65333*	.31631	.000	1.0005	2.3062
Konsent rasi 20%	Konsent rasi 10%	1.62333*	.31631	.000	.9705	2.2762	
	Konsent rasi 30%	-4.27667*	.31631	.000	-4.9295	-3.6238	
	Konsent rasi 40%	-4.47667*	.31631	.000	-5.1295	-3.8238	
	Konsent rasi 50%	-5.33333*	.31631	.000	-5.9862	-4.6805	
	Konsent rasi 60%	-6.27667*	.31631	.000	-6.9295	-5.6238	
	Konsent rasi 70%	-6.41000*	.31631	.000	-7.0628	-5.7572	

	Konsent rasi 80%	-7.37000*	.31631	.000	-8.0228	-6.7172
	Konsent rasi 90%	-7.52333*	.31631	.000	-8.1762	-6.8705
	Konsent rasi 100%	-8.16667*	.31631	.000	-8.8195	-7.5138
	Kontrol Positif	-10.60000*	.31631	.000	-11.2528	-9.9472
	Kontrol Negatif	3.27667*	.31631	.000	2.6238	3.9295
Konsent rasi 30%	Konsent rasi 10%	5.90000*	.31631	.000	5.2472	6.5528
	Konsent rasi 20%	4.27667*	.31631	.000	3.6238	4.9295
	Konsent rasi 40%	-.20000	.31631	.533	-.8528	.4528
	Konsent rasi 50%	-1.05667*	.31631	.003	-1.7095	-.4038
	Konsent rasi 60%	-2.00000*	.31631	.000	-2.6528	-1.3472
	Konsent rasi 70%	-2.13333*	.31631	.000	-2.7862	-1.4805
	Konsent rasi 80%	-3.09333*	.31631	.000	-3.7462	-2.4405
	Konsent rasi 90%	-3.24667*	.31631	.000	-3.8995	-2.5938
	Konsent rasi 100%	-3.89000*	.31631	.000	-4.5428	-3.2372
		Kontrol Positif	-6.32333*	.31631	.000	-6.9762
	Kontrol Negatif	7.55333*	.31631	.000	6.9005	8.2062
Konsent rasi 40%	Konsent rasi 10%	6.10000*	.31631	.000	5.4472	6.7528
	Konsent rasi 20%	4.47667*	.31631	.000	3.8238	5.1295
	Konsent rasi 30%	.20000	.31631	.533	-.4528	.8528

	Konsent rasi 50%	-0.85667*	.31631	.012	-1.5095	-.2038
	Konsent rasi 60%	-1.80000*	.31631	.000	-2.4528	-1.1472
	Konsent rasi 70%	-1.93333*	.31631	.000	-2.5862	-1.2805
	Konsent rasi 80%	-2.89333*	.31631	.000	-3.5462	-2.2405
	Konsent rasi 90%	-3.04667*	.31631	.000	-3.6995	-2.3938
	Konsent rasi 100%	-3.69000*	.31631	.000	-4.3428	-3.0372
	Kontrol Positif	-6.12333*	.31631	.000	-6.7762	-5.4705
	Kontrol Negatif	7.75333*	.31631	.000	7.1005	8.4062
Konsent rasi 50%	Konsent rasi 10%	6.95667*	.31631	.000	6.3038	7.6095
	Konsent rasi 20%	5.33333*	.31631	.000	4.6805	5.9862
	Konsent rasi 30%	1.05667*	.31631	.003	.4038	1.7095
	Konsent rasi 40%	.85667*	.31631	.012	.2038	1.5095
	Konsent rasi 60%	-.94333*	.31631	.006	-1.5962	-.2905
	Konsent rasi 70%	-1.07667*	.31631	.002	-1.7295	-.4238
	Konsent rasi 80%	-2.03667*	.31631	.000	-2.6895	-1.3838
	Konsent rasi 90%	-2.19000*	.31631	.000	-2.8428	-1.5372
	Konsent rasi 100%	-2.83333*	.31631	.000	-3.4862	-2.1805
	Kontrol Positif	-5.26667*	.31631	.000	-5.9195	-4.6138
	Kontrol Negatif	8.61000*	.31631	.000	7.9572	9.2628

Konsent rasi 60%	Konsent rasi 10%	7.90000*	.31631	.000	7.2472	8.5528
	Konsent rasi 20%	6.27667*	.31631	.000	5.6238	6.9295
	Konsent rasi 30%	2.00000*	.31631	.000	1.3472	2.6528
	Konsent rasi 40%	1.80000*	.31631	.000	1.1472	2.4528
	Konsent rasi 50%	.94333*	.31631	.006	.2905	1.5962
	Konsent rasi 70%	-.13333	.31631	.677	-.7862	.5195
	Konsent rasi 80%	-1.09333*	.31631	.002	-1.7462	-.4405
	Konsent rasi 90%	-1.24667*	.31631	.001	-1.8995	-.5938
	Konsent rasi 100%	-1.89000*	.31631	.000	-2.5428	-1.2372
	Kontrol Positif	-4.32333*	.31631	.000	-4.9762	-3.6705
Kontrol Negatif	9.55333*	.31631	.000	8.9005	10.2062	
Konsent rasi 70%	Konsent rasi 10%	8.03333*	.31631	.000	7.3805	8.6862
	Konsent rasi 20%	6.41000*	.31631	.000	5.7572	7.0628
	Konsent rasi 30%	2.13333*	.31631	.000	1.4805	2.7862
	Konsent rasi 40%	1.93333*	.31631	.000	1.2805	2.5862
	Konsent rasi 50%	1.07667*	.31631	.002	.4238	1.7295
	Konsent rasi 60%	.13333	.31631	.677	-.5195	.7862
	Konsent rasi 80%	-.96000*	.31631	.006	-1.6128	-.3072
	Konsent rasi 90%	-1.11333*	.31631	.002	-1.7662	-.4605



Konsent rasi 80%	Konsent rasi 100%	-1.75667*	.31631	.000	-2.4095	-1.1038
	Kontrol Positif	-4.19000*	.31631	.000	-4.8428	-3.5372
	Kontrol Negatif	9.68667*	.31631	.000	9.0338	10.3395
	Konsent rasi 10%	8.99333*	.31631	.000	8.3405	9.6462
	Konsent rasi 20%	7.37000*	.31631	.000	6.7172	8.0228
	Konsent rasi 30%	3.09333*	.31631	.000	2.4405	3.7462
	Konsent rasi 40%	2.89333*	.31631	.000	2.2405	3.5462
	Konsent rasi 50%	2.03667*	.31631	.000	1.3838	2.6895
	Konsent rasi 60%	1.09333*	.31631	.002	.4405	1.7462
	Konsent rasi 70%	.96000*	.31631	.006	.3072	1.6128
	Konsent rasi 90%	-.15333	.31631	.632	-.8062	.4995
	Konsent rasi 100%	-.79667*	.31631	.019	-1.4495	-.1438
	Kontrol Positif	-3.23000*	.31631	.000	-3.8828	-2.5772
	Kontrol Negatif	10.64667*	.31631	.000	9.9938	11.2995
	Konsent rasi 90%	Konsent rasi 10%	9.14667*	.31631	.000	8.4938
Konsent rasi 20%		7.52333*	.31631	.000	6.8705	8.1762
Konsent rasi 30%		3.24667*	.31631	.000	2.5938	3.8995
Konsent rasi 40%		3.04667*	.31631	.000	2.3938	3.6995
Konsent rasi 50%		2.19000*	.31631	.000	1.5372	2.8428

	Konsent rasi 60%	1.24667*	.31631	.001	.5938	1.8995	
	Konsent rasi 70%	1.11333*	.31631	.002	.4605	1.7662	
	Konsent rasi 80%	.15333	.31631	.632	-.4995	.8062	
	Konsent rasi 100%	-.64333	.31631	.053	-1.2962	.0095	
	Kontrol Positif	-3.07667*	.31631	.000	-3.7295	-2.4238	
	Kontrol Negatif	10.80000*	.31631	.000	10.1472	11.4528	
Konsent rasi 100%	Konsent rasi 10%	9.79000*	.31631	.000	9.1372	10.4428	
	Konsent rasi 20%	8.16667*	.31631	.000	7.5138	8.8195	
	Konsent rasi 30%	3.89000*	.31631	.000	3.2372	4.5428	
	Konsent rasi 40%	3.69000*	.31631	.000	3.0372	4.3428	
	Konsent rasi 50%	2.83333*	.31631	.000	2.1805	3.4862	
	Konsent rasi 60%	1.89000*	.31631	.000	1.2372	2.5428	
	Konsent rasi 70%	1.75667*	.31631	.000	1.1038	2.4095	
	Konsent rasi 80%	.79667*	.31631	.019	.1438	1.4495	
	Konsent rasi 90%	.64333	.31631	.053	-.0095	1.2962	
	Kontrol Positif	-2.43333*	.31631	.000	-3.0862	-1.7805	
	Kontrol Negatif	11.44333*	.31631	.000	10.7905	12.0962	
	Kontrol Positif	Konsent rasi 10%	12.22333*	.31631	.000	11.5705	12.8762
		Konsent rasi 20%	10.60000*	.31631	.000	9.9472	11.2528

	Konsent rasi 30%	6.32333*	.31631	.0 00	5.6705	6.9762
	Konsent rasi 40%	6.12333*	.31631	.0 00	5.4705	6.7762
	Konsent rasi 50%	5.26667*	.31631	.0 00	4.6138	5.9195
	Konsent rasi 60%	4.32333*	.31631	.0 00	3.6705	4.9762
	Konsent rasi 70%	4.19000*	.31631	.0 00	3.5372	4.8428
	Konsent rasi 80%	3.23000*	.31631	.0 00	2.5772	3.8828
	Konsent rasi 90%	3.07667*	.31631	.0 00	2.4238	3.7295
	Konsent rasi 100%	2.43333*	.31631	.0 00	1.7805	3.0862
	Kontrol Negatif	13.87667*	.31631	.0 00	13.2238	14.5295
Kontrol Negatif	Konsent rasi 10%	-1.65333*	.31631	.0 00	-2.3062	-1.0005
	Konsent rasi 20%	-3.27667*	.31631	.0 00	-3.9295	-2.6238
	Konsent rasi 30%	-7.55333*	.31631	.0 00	-8.2062	-6.9005
	Konsent rasi 40%	-7.75333*	.31631	.0 00	-8.4062	-7.1005
	Konsent rasi 50%	-8.61000*	.31631	.0 00	-9.2628	-7.9572
	Konsent rasi 60%	-9.55333*	.31631	.0 00	-10.2062	-8.9005
	Konsent rasi 70%	-9.68667*	.31631	.0 00	-10.3395	-9.0338
	Konsent rasi 80%	-10.64667*	.31631	.0 00	-11.2995	-9.9938
	Konsent rasi 90%	-10.80000*	.31631	.0 00	-11.4528	-10.1472
	Konsent rasi 100%	-11.44333*	.31631	.0 00	-12.0962	-10.7905

	Kontrol	-13.87667*	.31631	.0	-14.5295	-13.2238
	Positif			00		

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

10. Uji Duncan *Staphylococcus aureus* metode rebus 50°C

Diameter Zona Hambat										
Variasi	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrol Negatif	3	.0000								
Konsent rasi 10%	3		3.2767							
Konsent rasi 20%	3			4.2667						
Konsent rasi 30%	3				6.2333					
Konsent rasi 40%	3				6.3333					
Konsent rasi 50%	3					8.1600				
Konsent rasi 60%	3						9.2533			
Konsent rasi 70%	3						9.5867			
Konsent rasi 80%	3							11.1467		
Konsent rasi 90%	3							11.3000	11.3000	
Konsent rasi 100%	3								14.2433	
Kontrol Positif	3									28.3767
Sig.		1.000	1.000	1.000	.533	1.000	.677	.632	.053	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

11. Uji Normalitas *E.Coli* metode kukus 90°C

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
N		36	36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6.50	8.0139
	Std. Deviation	3.501	6.77441
Most Extreme Differences	Absolute	.096	.324
	Positive	.096	.324
	Negative	-.096	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	1.945
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.275

12. Uji Homogenitas *E.Coli* metode kukus 90°C

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.448	11	24	.130

13. Uji *One Way Anova* *E.Coli* metode kukus 90°C

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	580.822	11	52.802	351.837	.000
Within Groups	3.602	24	.150		
Total	584.423	35			

14. Uji LDS *E.Coli* metode kukus 90°C

Multiple Comparisons
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat

	(I) Variasi Konsent rasi	(J) Variasi Konsent rasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
L S D	Konsent rasi 10%	Konsent rasi 20%	-.13333	.65391	.840	-1.4829	1.2163	
		Konsent rasi 30%	-4.20000*	.65391	.000	-5.5496	-2.8504	
		Konsent rasi 40%	-4.26667*	.65391	.000	-5.6163	-2.9171	
		Konsent rasi 50%	-5.03333*	.65391	.000	-6.3829	-3.6837	
		Konsent rasi 60%	-5.26667*	.65391	.000	-6.6163	-3.9171	
		Konsent rasi 70%	-6.00000*	.65391	.000	-7.3496	-4.6504	
		Konsent rasi 80%	-6.13333*	.65391	.000	-7.4829	-4.7837	
		Konsent rasi 90%	-7.03333*	.65391	.000	-8.3829	-5.6837	
		Konsent rasi 100%	-7.26667*	.65391	.000	-8.6163	-5.9171	
		Kontrol Positif	-25.53333*	.65391	.000	-26.8829	-24.1837	
		Kontrol Negatif	2.30000*	.65391	.002	.9504	3.6496	
		Konsent rasi 20%	Konsent rasi 10%	.13333	.65391	.840	-1.2163	1.4829
			Konsent rasi 30%	-4.06667*	.65391	.000	-5.4163	-2.7171
Konsent rasi 40%	-4.13333*		.65391	.000	-5.4829	-2.7837		
Konsent rasi 50%	-4.90000*		.65391	.000	-6.2496	-3.5504		
Konsent rasi 60%	-5.13333*		.65391	.000	-6.4829	-3.7837		
Konsent rasi 70%	-5.86667*		.65391	.000	-7.2163	-4.5171		

	Konsent rasi 80%	-6.00000*	.65391	.000	-7.3496	-4.6504
	Konsent rasi 90%	-6.90000*	.65391	.000	-8.2496	-5.5504
	Konsent rasi 100%	-7.13333*	.65391	.000	-8.4829	-5.7837
	Kontrol Positif	-25.40000*	.65391	.000	-26.7496	-24.0504
	Kontrol Negatif	2.43333*	.65391	.001	1.0837	3.7829
Konsent rasi 30%	Konsent rasi 10%	4.20000*	.65391	.000	2.8504	5.5496
	Konsent rasi 20%	4.06667*	.65391	.000	2.7171	5.4163
	Konsent rasi 40%	-.06667	.65391	.920	-1.4163	1.2829
	Konsent rasi 50%	-.83333	.65391	.215	-2.1829	.5163
	Konsent rasi 60%	-1.06667	.65391	.116	-2.4163	.2829
	Konsent rasi 70%	-1.80000*	.65391	.011	-3.1496	-.4504
	Konsent rasi 80%	-1.93333*	.65391	.007	-3.2829	-.5837
	Konsent rasi 90%	-2.83333*	.65391	.000	-4.1829	-1.4837
	Konsent rasi 100%	-3.06667*	.65391	.000	-4.4163	-1.7171
	Kontrol Positif	-21.33333*	.65391	.000	-22.6829	-19.9837
	Kontrol Negatif	6.50000*	.65391	.000	5.1504	7.8496
	Konsent rasi 40%	Konsent rasi 10%	4.26667*	.65391	.000	2.9171
Konsent rasi 20%		4.13333*	.65391	.000	2.7837	5.4829
Konsent rasi 30%		.06667	.65391	.920	-1.2829	1.4163

	Konsent rasi 50%	-0.76667	.65391	.253	-2.1163	.5829
	Konsent rasi 60%	-1.00000	.65391	.139	-2.3496	.3496
	Konsent rasi 70%	-1.73333*	.65391	.014	-3.0829	-.3837
	Konsent rasi 80%	-1.86667*	.65391	.009	-3.2163	-.5171
	Konsent rasi 90%	-2.76667*	.65391	.000	-4.1163	-1.4171
	Konsent rasi 100%	-3.00000*	.65391	.000	-4.3496	-1.6504
	Kontrol Positif	-21.26667*	.65391	.000	-22.6163	-19.9171
	Kontrol Negatif	6.56667*	.65391	.000	5.2171	7.9163
Konsent rasi 50%	Konsent rasi 10%	5.03333*	.65391	.000	3.6837	6.3829
	Konsent rasi 20%	4.90000*	.65391	.000	3.5504	6.2496
	Konsent rasi 30%	.83333	.65391	.215	-.5163	2.1829
	Konsent rasi 40%	.76667	.65391	.253	-.5829	2.1163
	Konsent rasi 60%	-.23333	.65391	.724	-1.5829	1.1163
	Konsent rasi 70%	-.96667	.65391	.152	-2.3163	.3829
	Konsent rasi 80%	-1.10000	.65391	.105	-2.4496	.2496
	Konsent rasi 90%	-2.00000*	.65391	.005	-3.3496	-.6504
	Konsent rasi 100%	-2.23333*	.65391	.002	-3.5829	-.8837
	Kontrol Positif	-20.50000*	.65391	.000	-21.8496	-19.1504
	Kontrol Negatif	7.33333*	.65391	.000	5.9837	8.6829



Konsent rasi 60%	Konsent rasi 10%	5.26667*	.65391	.000	3.9171	6.6163
	Konsent rasi 20%	5.13333*	.65391	.000	3.7837	6.4829
	Konsent rasi 30%	1.06667	.65391	.116	-.2829	2.4163
	Konsent rasi 40%	1.00000	.65391	.139	-.3496	2.3496
	Konsent rasi 50%	.23333	.65391	.724	-1.1163	1.5829
	Konsent rasi 70%	-.73333	.65391	.273	-2.0829	.6163
	Konsent rasi 80%	-.86667	.65391	.198	-2.2163	.4829
	Konsent rasi 90%	-1.76667*	.65391	.012	-3.1163	-.4171
	Konsent rasi 100%	-2.00000*	.65391	.005	-3.3496	-.6504
	Kontrol Positif	-20.26667*	.65391	.000	-21.6163	-18.9171
Kontrol Negatif	7.56667*	.65391	.000	6.2171	8.9163	
Konsent rasi 70%	Konsent rasi 10%	6.00000*	.65391	.000	4.6504	7.3496
	Konsent rasi 20%	5.86667*	.65391	.000	4.5171	7.2163
	Konsent rasi 30%	1.80000*	.65391	.011	.4504	3.1496
	Konsent rasi 40%	1.73333*	.65391	.014	.3837	3.0829
	Konsent rasi 50%	.96667	.65391	.152	-.3829	2.3163
	Konsent rasi 60%	.73333	.65391	.273	-.6163	2.0829
	Konsent rasi 80%	-.13333	.65391	.840	-1.4829	1.2163
	Konsent rasi 90%	-1.03333	.65391	.127	-2.3829	.3163

	Konsent rasi 100%	-1.26667	.65391	.065	-2.6163	.0829	
	Kontrol Positif	-19.53333*	.65391	.000	-20.8829	-18.1837	
	Kontrol Negatif	8.30000*	.65391	.000	6.9504	9.6496	
Konsent rasi 80%	Konsent rasi 10%	6.13333*	.65391	.000	4.7837	7.4829	
	Konsent rasi 20%	6.00000*	.65391	.000	4.6504	7.3496	
	Konsent rasi 30%	1.93333*	.65391	.007	.5837	3.2829	
	Konsent rasi 40%	1.86667*	.65391	.009	.5171	3.2163	
	Konsent rasi 50%	1.10000	.65391	.105	-.2496	2.4496	
	Konsent rasi 60%	.86667	.65391	.198	-.4829	2.2163	
	Konsent rasi 70%	.13333	.65391	.840	-1.2163	1.4829	
	Konsent rasi 90%	-.90000	.65391	.181	-2.2496	.4496	
	Konsent rasi 100%	-1.13333	.65391	.096	-2.4829	.2163	
	Kontrol Positif	-19.40000*	.65391	.000	-20.7496	-18.0504	
	Kontrol Negatif	8.43333*	.65391	.000	7.0837	9.7829	
	Konsent rasi 90%	Konsent rasi 10%	7.03333*	.65391	.000	5.6837	8.3829
		Konsent rasi 20%	6.90000*	.65391	.000	5.5504	8.2496
Konsent rasi 30%		2.83333*	.65391	.000	1.4837	4.1829	
Konsent rasi 40%		2.76667*	.65391	.000	1.4171	4.1163	
Konsent rasi 50%		2.00000*	.65391	.005	1.6504	3.3496	

	Konsent rasi 60%	1.76667*	.65391	.012	.4171	3.1163	
	Konsent rasi 70%	1.03333	.65391	.127	-.3163	2.3829	
	Konsent rasi 80%	.90000	.65391	.181	-.4496	2.2496	
	Konsent rasi 100%	-.23333	.65391	.724	-1.5829	1.1163	
	Kontrol Positif	-18.50000*	.65391	.000	-19.8496	-17.1504	
	Kontrol Negatif	9.33333*	.65391	.000	7.9837	10.6829	
Konsent rasi 100%	Konsent rasi 10%	7.26667*	.65391	.000	5.9171	8.6163	
	Konsent rasi 20%	7.13333*	.65391	.000	5.7837	8.4829	
	Konsent rasi 30%	3.06667*	.65391	.000	1.7171	4.4163	
	Konsent rasi 40%	3.00000*	.65391	.000	1.6504	4.3496	
	Konsent rasi 50%	2.23333*	.65391	.002	.8837	3.5829	
	Konsent rasi 60%	2.00000*	.65391	.005	.6504	3.3496	
	Konsent rasi 70%	1.26667	.65391	.065	-.0829	2.6163	
	Konsent rasi 80%	1.13333	.65391	.096	-.2163	2.4829	
	Konsent rasi 90%	.23333	.65391	.724	-1.1163	1.5829	
	Kontrol Positif	-18.26667*	.65391	.000	-19.6163	-16.9171	
	Kontrol Negatif	9.56667*	.65391	.000	8.2171	10.9163	
	Kontrol Positif	Konsent rasi 10%	25.53333*	.65391	.000	24.1837	26.8829
		Konsent rasi 20%	25.40000*	.65391	.000	24.0504	26.7496

	Konsent rasi 30%	21.33333*	.65391	.000	19.9837	22.6829
	Konsent rasi 40%	21.26667*	.65391	.000	19.9171	22.6163
	Konsent rasi 50%	20.50000*	.65391	.000	19.1504	21.8496
	Konsent rasi 60%	20.26667*	.65391	.000	18.9171	21.6163
	Konsent rasi 70%	19.53333*	.65391	.000	18.1837	20.8829
	Konsent rasi 80%	19.40000*	.65391	.000	18.0504	20.7496
	Konsent rasi 90%	18.50000*	.65391	.000	17.1504	19.8496
	Konsent rasi 100%	18.26667*	.65391	.000	16.9171	19.6163
	Kontrol Negatif	27.83333*	.65391	.000	26.4837	29.1829
Kontrol Negatif	Konsent rasi 10%	-2.30000*	.65391	.002	-3.6496	-.9504
	Konsent rasi 20%	-2.43333*	.65391	.001	-3.7829	-1.0837
	Konsent rasi 30%	-6.50000*	.65391	.000	-7.8496	-5.1504
	Konsent rasi 40%	-6.56667*	.65391	.000	-7.9163	-5.2171
	Konsent rasi 50%	-7.33333*	.65391	.000	-8.6829	-5.9837
	Konsent rasi 60%	-7.56667*	.65391	.000	-8.9163	-6.2171
	Konsent rasi 70%	-8.30000*	.65391	.000	-9.6496	-6.9504
	Konsent rasi 80%	-8.43333*	.65391	.000	-9.7829	-7.0837
	Konsent rasi 90%	-9.33333*	.65391	.000	-10.6829	-7.9837
	Konsent rasi 100%	-9.56667*	.65391	.000	-10.9163	-8.2171

	Kontrol Positif	-27.83333*	.65391	.000	-29.1829	-26.4837
--	-----------------	------------	--------	------	----------	----------

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

15. Uji Duncan *E.Coli* metode kukus 90°C

		Diameter Zona Hambat						
Variasi	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
Kontrol Negatif	3	.0000						
Konsentrasi 10%	3		2.3000					
Konsentrasi 20%	3		2.4333					
Konsentrasi 30%	3			6.5000				
Konsentrasi 40%	3			6.5667				
Konsentrasi 50%	3				7.3333			
Duncan <sup>a</sup> Konsentrasi 60%	3				7.5667			
Konsentrasi 70%	3					8.2000		
Konsentrasi 80%	3					8.4333		
Konsentrasi 90%	3						9.3333	
Konsentrasi 100%	3						9.5667	
Kontrol Positif	3							27.8333
Sig.		1.0000	.8400	.1480	.1360	.0870	.1400	1.0000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.								
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.								

16. Uji Normalitas *E.Coli* metode rebus 50°C

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		Variasi Konsentrasi	Diameter Zona Hambat
N		36	36
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6.50	8.8139
	Std. Deviation	3.501	6.99351
Most Extreme Differences	Absolute	.096	.267
	Positive	.096	.267
	Negative	-.096	-.164
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	1.603
Asymp. Sig. (2-tailed)		.896	.172

17. Uji Homogenitas *E.Coli* metode rebus 50°C

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter Zona Hambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
14.226	11	24	.210

18. Uji *One Way Anova E.Coli* metode rebus 50°C

ANOVA					
Diameter Zona Hambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1707.396	11	155.218	841.543	.000
Within Groups	4.427	24	.184		
Total	1711.823	35			

19. Uji LDS *E.Coli* metode rebus 50°C

Multiple Comparisons					
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat					
(I) Variasi	(J) Variasi		Std. Error	Si g.	95% Confidence Interval

	Konsent rasi	Konsent rasi	Mean Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
L S D		Konsent rasi 20%	-1.06667*	.35066	.006	-1.7904	-.3429
		Konsent rasi 30%	-5.16667*	.35066	.000	-5.8904	-4.4429
		Konsent rasi 40%	-5.30000*	.35066	.000	-6.0237	-4.5763
		Konsent rasi 50%	-6.06667*	.35066	.000	-6.7904	-5.3429
		Konsent rasi 60%	-6.23333*	.35066	.000	-6.9571	-5.5096
		Konsent rasi 70%	-7.00000*	.35066	.000	-7.7237	-6.2763
		Konsent rasi 80%	-7.20000*	.35066	.000	-7.9237	-6.4763
		Konsent rasi 90%	-8.26667*	.35066	.000	-8.9904	-7.5429
		Konsent rasi 100%	-9.30000*	.35066	.000	-10.0237	-8.5763
		Kontrol Positif	-26.70000*	.35066	.000	-27.4237	-25.9763
		Kontrol Negatif	2.13333*	.35066	.000	1.4096	2.8571
	Konsent rasi 10%	1.06667*	.35066	.006	.3429	1.7904	
	Konsent rasi 30%	-4.10000*	.35066	.000	-4.8237	-3.3763	
	Konsent rasi 40%	-4.23333*	.35066	.000	-4.9571	-3.5096	
	Konsent rasi 50%	-5.00000*	.35066	.000	-5.7237	-4.2763	
	Konsent rasi 60%	-5.16667*	.35066	.000	-5.8904	-4.4429	
	Konsent rasi 70%	-5.93333*	.35066	.000	-6.6571	-5.2096	
	Konsent rasi 80%	-6.13333*	.35066	.000	-6.8571	-5.4096	

	Konsent rasi 90%	-7.20000*	.35066	.000	-7.9237	-6.4763
	Konsent rasi 100%	-8.23333*	.35066	.000	-8.9571	-7.5096
	Kontrol Positif	-25.63333*	.35066	.000	-26.3571	-24.9096
	Kontrol Negatif	3.20000*	.35066	.000	2.4763	3.9237
Konsent rasi 30%	Konsent rasi 10%	5.16667*	.35066	.000	4.4429	5.8904
	Konsent rasi 20%	4.10000*	.35066	.000	3.3763	4.8237
	Konsent rasi 40%	-.13333	.35066	.707	-.8571	.5904
	Konsent rasi 50%	-.90000*	.35066	.017	-1.6237	-.1763
	Konsent rasi 60%	-1.06667*	.35066	.006	-1.7904	-.3429
	Konsent rasi 70%	-1.83333*	.35066	.000	-2.5571	-1.1096
	Konsent rasi 80%	-2.03333*	.35066	.000	-2.7571	-1.3096
	Konsent rasi 90%	-3.10000*	.35066	.000	-3.8237	-2.3763
	Konsent rasi 100%	-4.13333*	.35066	.000	-4.8571	-3.4096
	Kontrol Positif	-21.53333*	.35066	.000	-22.2571	-20.8096
	Kontrol Negatif	7.30000*	.35066	.000	6.5763	8.0237
	Konsent rasi 40%	Konsent rasi 10%	5.30000*	.35066	.000	4.5763
Konsent rasi 20%		4.23333*	.35066	.000	3.5096	4.9571
Konsent rasi 30%		.13333	.35066	.707	-.5904	.8571
Konsent rasi 50%		-.76667*	.35066	.039	-1.4904	-.0429



	Konsent rasi 60%	-.93333*	.35066	.014	-1.6571	-.2096
	Konsent rasi 70%	-1.70000*	.35066	.00	-2.4237	-.9763
	Konsent rasi 80%	-1.90000*	.35066	.00	-2.6237	-1.1763
	Konsent rasi 90%	-2.96667*	.35066	.00	-3.6904	-2.2429
	Konsent rasi 100%	-4.00000*	.35066	.00	-4.7237	-3.2763
	Kontrol Positif	-21.40000*	.35066	.00	-22.1237	-20.6763
	Kontrol Negatif	7.43333*	.35066	.00	6.7096	8.1571
Konsent rasi 50%	Konsent rasi 10%	6.06667*	.35066	.00	5.3429	6.7904
	Konsent rasi 20%	5.00000*	.35066	.00	4.2763	5.7237
	Konsent rasi 30%	.90000*	.35066	.017	.1763	1.6237
	Konsent rasi 40%	.76667*	.35066	.039	.0429	1.4904
	Konsent rasi 60%	-.16667	.35066	.039	-.8904	.5571
	Konsent rasi 70%	-.93333*	.35066	.014	-1.6571	-.2096
	Konsent rasi 80%	-1.13333*	.35066	.004	-1.8571	-.4096
	Konsent rasi 90%	-2.20000*	.35066	.00	-2.9237	-1.4763
	Konsent rasi 100%	-3.23333*	.35066	.00	-3.9571	-2.5096
	Kontrol Positif	-20.63333*	.35066	.00	-21.3571	-19.9096
	Kontrol Negatif	8.20000*	.35066	.00	7.4763	8.9237
	Konsent rasi 60%	Konsent rasi 10%	6.23333*	.35066	.00	5.5096

	Konsent rasi 20%	5.16667*	.35066	.000	4.4429	5.8904
	Konsent rasi 30%	1.06667*	.35066	.006	.3429	1.7904
	Konsent rasi 40%	.93333*	.35066	.014	.2096	1.6571
	Konsent rasi 50%	.16667	.35066	.039	-.5571	.8904
	Konsent rasi 70%	-.76667*	.35066	.039	-1.4904	-.0429
	Konsent rasi 80%	-.96667*	.35066	.011	-1.6904	-.2429
	Konsent rasi 90%	-2.03333*	.35066	.000	-2.7571	-1.3096
	Konsent rasi 100%	-3.06667*	.35066	.000	-3.7904	-2.3429
	Kontrol Positif	-20.46667*	.35066	.000	-21.1904	-19.7429
	Kontrol Negatif	8.36667*	.35066	.000	7.6429	9.0904
Konsent rasi 70%	Konsent rasi 10%	7.00000*	.35066	.000	6.2763	7.7237
	Konsent rasi 20%	5.93333*	.35066	.000	5.2096	6.6571
	Konsent rasi 30%	1.83333*	.35066	.000	1.1096	2.5571
	Konsent rasi 40%	1.70000*	.35066	.000	.9763	2.4237
	Konsent rasi 50%	.93333*	.35066	.014	.2096	1.6571
	Konsent rasi 60%	.76667*	.35066	.039	.0429	1.4904
	Konsent rasi 80%	-.20000	.35066	.074	-.9237	.5237
	Konsent rasi 90%	-1.26667*	.35066	.001	-1.9904	-.5429
	Konsent rasi 100%	-2.30000*	.35066	.000	-3.0237	-1.5763

	Kontrol Positif	-19.70000*	.35066	.000	-20.4237	-18.9763
	Kontrol Negatif	9.13333*	.35066	.000	8.4096	9.8571
Konsent rasi 80%	Konsent rasi 10%	7.20000*	.35066	.000	6.4763	7.9237
	Konsent rasi 20%	6.13333*	.35066	.000	5.4096	6.8571
	Konsent rasi 30%	2.03333*	.35066	.000	1.3096	2.7571
	Konsent rasi 40%	1.90000*	.35066	.000	1.1763	2.6237
	Konsent rasi 50%	1.13333*	.35066	.004	.4096	1.8571
	Konsent rasi 60%	.96667*	.35066	.011	.2429	1.6904
	Konsent rasi 70%	.20000	.35066	.574	-.5237	.9237
	Konsent rasi 90%	-1.06667*	.35066	.006	-1.7904	-.3429
	Konsent rasi 100%	-2.10000*	.35066	.000	-2.8237	-1.3763
	Kontrol Positif	-19.50000*	.35066	.000	-20.2237	-18.7763
	Kontrol Negatif	9.33333*	.35066	.000	8.6096	10.0571
	Konsent rasi 90%	Konsent rasi 10%	8.26667*	.35066	.000	7.5429
Konsent rasi 20%		7.20000*	.35066	.000	6.4763	7.9237
Konsent rasi 30%		3.10000*	.35066	.000	2.3763	3.8237
Konsent rasi 40%		2.96667*	.35066	.000	2.2429	3.6904
Konsent rasi 50%		2.20000*	.35066	.000	1.4763	2.9237
Konsent rasi 60%		2.03333*	.35066	.000	1.3096	2.7571

	Konsent rasi 70%	1.26667*	.35066	.001	.5429	1.9904
	Konsent rasi 80%	1.06667*	.35066	.006	.3429	1.7904
	Konsent rasi 100%	-1.03333*	.35066	.007	-1.7571	-3.096
	Kontrol Positif	-18.43333*	.35066	.000	-19.1571	-17.7096
	Kontrol Negatif	10.40000*	.35066	.000	9.6763	11.1237
Konsent rasi 100%	Konsent rasi 10%	9.30000*	.35066	.000	8.5763	10.0237
	Konsent rasi 20%	8.23333*	.35066	.000	7.5096	8.9571
	Konsent rasi 30%	4.13333*	.35066	.000	3.4096	4.8571
	Konsent rasi 40%	4.00000*	.35066	.000	3.2763	4.7237
	Konsent rasi 50%	3.23333*	.35066	.000	2.5096	3.9571
	Konsent rasi 60%	3.06667*	.35066	.000	2.3429	3.7904
	Konsent rasi 70%	2.30000*	.35066	.000	1.5763	3.0237
	Konsent rasi 80%	2.10000*	.35066	.000	1.3763	2.8237
	Konsent rasi 90%	1.03333*	.35066	.007	.3096	1.7571
	Kontrol Positif	-17.40000*	.35066	.000	-18.1237	-16.6763
	Kontrol Negatif	11.43333*	.35066	.000	10.7096	12.1571
	Kontrol Positif	Konsent rasi 10%	26.70000*	.35066	.000	25.9763
Konsent rasi 20%		25.63333*	.35066	.000	24.9096	26.3571
Konsent rasi 30%		21.53333*	.35066	.000	20.8096	22.2571

SEKOLAH KARYA PUTRA BANGSA TULUNGAGUNG	Konsent rasi 40%	21.40000*	.35066	.000	20.6763	22.1237	
	Konsent rasi 50%	20.63333*	.35066	.000	19.9096	21.3571	
	Konsent rasi 60%	20.46667*	.35066	.000	19.7429	21.1904	
	Konsent rasi 70%	19.70000*	.35066	.000	18.9763	20.4237	
	Konsent rasi 80%	19.50000*	.35066	.000	18.7763	20.2237	
	Konsent rasi 90%	18.43333*	.35066	.000	17.7096	19.1571	
	Konsent rasi 100%	17.40000*	.35066	.000	16.6763	18.1237	
	Kontrol Negatif	28.83333*	.35066	.000	28.1096	29.5571	
	Kontrol Negatif	Konsent rasi 10%	-2.13333*	.35066	.000	-2.8571	-1.4096
		Konsent rasi 20%	-3.20000*	.35066	.000	-3.9237	-2.4763
		Konsent rasi 30%	-7.30000*	.35066	.000	-8.0237	-6.5763
		Konsent rasi 40%	-7.43333*	.35066	.000	-8.1571	-6.7096
		Konsent rasi 50%	-8.20000*	.35066	.000	-8.9237	-7.4763
		Konsent rasi 60%	-8.36667*	.35066	.000	-9.0904	-7.6429
		Konsent rasi 70%	-9.13333*	.35066	.000	-9.8571	-8.4096
		Konsent rasi 80%	-9.33333*	.35066	.000	-10.0571	-8.6096
		Konsent rasi 90%	-10.40000*	.35066	.000	-11.1237	-9.6763
		Konsent rasi 100%	-11.43333*	.35066	.000	-12.1571	-10.7096
	Kontrol Positif	-28.83333*	.35066	.000	-29.5571	-28.1096	

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

20. Uji Duncan *E.Coli* metode rebus 50°C

Diameter Zona Hambat											
	Variasi	N	Subset for alpha = 0.05								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Duncan <sup>a</sup>	Kontrol Negatif	3	.0000								
	Konsentrasi 10%	3		2.1333							
	Konsentrasi 20%	3			3.2000						
	Konsentrasi 30%	3				7.3000					
	Konsentrasi 40%	3				7.4333					
	Konsentrasi 50%	3					8.2000				
	Konsentrasi 60%	3					8.3667				
	Konsentrasi 70%	3						9.1333			
	Konsentrasi 80%	3							9.3333		
	Konsentrasi 90%	3								10.4000	
	Konsentrasi 100%	3									11.4333
	Kontrol Positif	3									28.8333
Sig.			1.0000	1.0000	1.0000	.7070	.6390	.5740	1.0000	1.0000	1.0000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.