

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Kesumawati¹, Heri Mulyadi², Mona Fathia³

Fakultas Kesehatan Universitas Ubudiyah Indonesia

Jln. Alue Naga, Desa Tibang, Syiah Kuala, Tibang, Kec. Syiah Kuala, Kota Banda Aceh

*Koresponding Penulis: ¹(kesumawati.uui.ac.id) ²(Herimulyadi93@gmail.com),
³(rulia.meilina@gmail.com)

ABSTRAK

Penyakit infeksi masih menempati urutan teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Bakteri *Staphylococcus aureus* menjadi penyebab utama penyebab infeksi sehingga menyebabkan peningkatan yang signifikan dalam pemakaian antibiotik. Pemakaian antibiotik yang terus menerus ini menimbulkan resistensi dan efek samping terapi. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional yang mengandung zat flavonoid, tanin dan saponin yang memiliki efek antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai antibakteri dan mengetahui konsentrasi ekstrak yang dapat menghasilkan zona hambat paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilakukan secara eksperimental. Bakteri *Staphylococcus aureus* akan di uji dengan ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi masing- masing 10%, 20%, 40% dan 60%. Perlakuan kontrol positif akan diberi tetrasiklin dan perlakuan kontrol negatif akan diberi Dimethyl Sufoxide (DMSO). Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan. Pada penelitian ini dapat disimpulkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat (mm). Zona hambat yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 60%.

Kata kunci : Antibakteri, Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Infectious diseases are still at the top of the list of causes of morbidity and mortality in developing countries, including Indonesia. *Staphylococcus aureus* bacteria are the main cause of infection causing a significant increase in the use of antibiotics. The continuous use of antibiotics creates resistance and side effects of therapy. The leaves of starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) are a plant that is used as a traditional medicine which contains flavonoids, tannins and saponins which have antibacterial effects. This study aims to determine the effectiveness of starfruit leaf extract (*Averrhoa bilimbi* L.) as an antibacterial and extract indicator that can produce the slowest zone in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria. The research was carried out experimentally. *Staphylococcus aureus* bacteria will be tested with starfruit leaf extract with a concentration of 10%, 20%, 40% and 60% respectively. The positive control treatment will be given tetracycline and the negative control treatment will be given Dimethyl Sufoxide (DMSO). In this study, a completely randomized design (CRD) was used. Each treatment was carried out 3 times. In this study, the ethanol extract of starfruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) can be canceled, which has antibacterial activity which can inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria by forming an inhibition zone (mm). The zone of inhibition that is greatest in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria is a concentration of 60%.

Keywords: Antibacterial, Starfruit Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan keanekaragaman hayati yang melimpah. Sebagian besar sudah dimanfaatkan sejak nenek moyang kita untuk mengobati berbagai penyakit. Indonesiaa diketahui memiliki keragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Dari berbagai penelitian menyebutkan, bahwa dari sebanyak 9.600 spesies tumbuhan diketahui memiliki khasiat obat, namun demikian baru sekitar 200 spesies yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku industri obat tradisional (Kusuma, dkk., 2016).

Salah satu dari sekian banyak tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki komponen farmakoseutika yaitu senyawa-senyawa yang bersifat buffer, antibakterial dan antioksidan (Yuliansyah & Faris, 2015). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hasim, dkk (2014) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh yaitu saponin, tanin, steroid, flavonoid, dan alkaloid yang memiliki efek sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda. Dengan mengetahui adanya aktivitas antibakteri daun belimbing wuluh diharapkan dapat mengembangkan potensi pendayagunaan tanaman obat berkhasiat yang ada di Indonesia.

Di Indonesia penyakit infeksi merupakan masalah utama dalam bidang kesehatan. Penyakit infeksi masih

menempati urutan teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia (Triana, 2014). Salah satu bakteri yang menyebabkan infeksi yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat masuk dalam kulit melalui folikel-folikel rambut dan luka-luka kecil, infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah (Fadhmi, dkk., 2015). Menurut WHO 2014 menyatakan bahwa selama lebih dari enam dekade, obat antibakteri dianggap sebagai obat yang paling ampuh untuk menyembuhkan penyakit infeksi. Pada tahun 1945, Alexander Fleming mengatakan bahwa bakteri dapat menjadi resisten terhadap antibiotik. Resistensi terjadi ketika bakteri mampu beradaptasi dan tumbuh bersama dengan adanya antibiotik (Chandra, 2017). Diketahui sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat sehingga muncul berbagai macam *Multi Drug Resistance* Organisme (MDROs) sehingga antibiotik tidak sensitive lagi terhadap bakteri (Menteri Republik Indonesia, 2016).

Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik mendorong adanya upaya untuk mendapatkan senyawa antibakteri dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari kekayaan keanekaragaman hayati. Oleh karena itu berdasarkan kandungan yang terdapat pada daun belimbing wuluh peneliti tertarik untuk menguji daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODELOGI PENELITIAN

Aat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik, loyang alumunium, tampah, oven, *blender*, *rotary evaporator*, *erlenmeyer*, *shaker*, *waterbath*, *autoklaf*, inkubator, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, pipet volum, gelas ukur, *hot plate*, bunsen, wadah, jangka sorong, *vortex stirrer*, corong kaca, gelas kimia, *magnetic stirrer*, batang pengaduk, palu sumuran, mikropipet, *yellow tip*, Mc. Farland Standart 10⁸ CFU.

Bahan yang digunakan adalah simplisia daun belimbing wuluh, Bakteri *Staphylococcus aureus*, metanol 96%, Dimethyl Sufoxide (DMSO), Mueller-Hilton Agar (MHA), alkohol 70%, alumunium foil, kertas saring, kapas, kain kasa, ketas payung, Tetrasiklin, NaCl fisiologis, dan *cotton bud*.

Penyiapan Sampel Ekstrak Daun Belimbing (*Averrhoa bilimbi* L.)

Daun belimbing wuluh segar diperoleh dari Desa Paru Keude Kec. Bandar Baru Kab. Pidie Jaya. Sampel yang digunakan adalah yang segar dan tidak layu, daun berwarna hijau dan tidak menguning. Daun belimbing wuluh yang telah dikumpulkan sebanyak 2 kg kemudian dilakukan sortasi basah yaitu dipisahkan dari bagian yang tidak digunakan dan pengotor lain, hal ini bertujuan untuk memilih bahan yang bagus dan memisahkan simplisia yang rusak, kemudian dilakukan pencucian dengan air mengalir, pencucian dilakukan untuk menghilangkan bahan organik asing yang ada pada simplisia. Dilanjutkan dengan proses perajangan, daun belimbing wuluh kemudian dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 50°C. Umbi yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk

dengan menggunakan blender. Serbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 40 mesh sehingga menjadi serbuk simplisia halus (Kemenkes RI., 2009). Selanjutnya dilakukan standarisasi simplisia daun belimbing wuluh meliputi penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, dan penetapan kadar air. Pengujian skrining fitokimia pada daun kelor adalah uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin, uji saponin, uji terpenoid dan steroid.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Timbang masing-masing serbuk simplisia sebanyak 300 gram, masukkan dalam wadah maserasi, tambahkan pelarut etanol 96%. Perendaman dilakukan selama 3 hari di dalam wadah toples tertutup pada suhu ruangan dengan dilakukan pengadukan larutan 2 kali sehari kemudian dilakukan penyaringan, filtrat dikumpulkan. Selanjutnya dilakukan remaserasi satu kali lagi. Filtrat digabung dengan filtrat yang pertama, filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Untuk menghilangkan etanol dari ekstrak maka ekstrak kental diuapkan lagi dengan menggunakan penangas air pada suhu lebih kurang 40°C. Kemudian timbang hasil rendemen (Lukman, 2016).

Pengujian Antibakteri Sterilisasi Alat

Alat-alat dari kaca seperti cawan petri, botol, pipet disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat suntik seperti spoit yang tidak tahan dalam pemanasan tinggi, disterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

dengan tekanan 2 atm. Jarum inokulasi atau ose disterilkan dengan cara dibakar pada nyala api lampu spiritus. Pada waktu memanaskan ose, dimulai dari pangkal kawat dan setelah terlihat merah berpijar secara pelan-pelan pemanasan dilanjutkan ke ujung ose.

Penyiapan Mikroorganisme

Mikroorganisme uji yang akan digunakan dalam penelitian direkultur terlebih dahulu di dalam tabung reaksi. Hal ini bertujuan untuk memperbanyak populasi dari mikroorganisme. Kultur murni dari bakteri *Staphylococcus aureus* secara aseptis menggunakan jarum ose lalu digoreskan secara zig-zag dalam agar miring *Mueller-Hilton Agar* (MHA) lalu diinkubasi selama 24 jam. Selain direkultur pada agar miring, bakteri juga di rekultur di cawan petri secara streak plate, hal ini bertujuan untuk memperoleh koloni bakteri yang terpisah.

Uji Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Media *Mueller-Hilton Agar* (MHA)

Mueller-Hilton Agar (MHA) sebanyak 19 gram dilarutkan ke dalam 500 mL akuades lalu dipanaskan dan dihomogenkan dengan menggunakan alat pemanas dan magnetic stirrer. Media MHA harus benar-benar homogen terlihat dari warna kuning bening yang menunjukkan bahwa MHA telah tercampur secara baik dengan akuades. Sebelum digunakan media disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (Febrianasari, 2018).

b. Persiapan Sumuran

Pembuatan sumuran dilakukan dengan menanamkan bor gabus pada media *Mueller-Hilton Agar* (MHA) yang

telah padat dan diatur jaraknya agar daerah pengamatan tidak bertumpu. Pencadangan selanjutnya diangkat dan media agar dirapikan menggunakan spatula steril sehingga terbentuk sumur-sumur yang akan digunakan untuk uji antibakteri (Ngajow, dkk., 2013).

c. Uji Aktivitas Antibakteri

Media yang digunakan dalam pengujian antibakteri yaitu media *Mueller-Hilton Agar* (MHA) dalam cawan petri yang telah diberi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL), oleskan dan diratakan pada media MHA. Masing-masing cawan petri yang berisikan MHA ditetesi dengan stok ekstrak daun belimbing wuluh, serta diberikan kontrol positif tetrasiklin 25 µl dan kontrol negatif larutan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) pada masing-masing sumuran dalam cawan petri menggunakan mikropipet. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm.

d. Pengukuran Zona Hambat

Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm. Cara pengukuran zona hambat yang terbentuk dengan cara mengukur diameter luar zona hambat yang terbentuk lalu dikurangi diameter sumuran.

Analisis Data

Analisis data dari hasil pengujian yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 21. Data pada penelitian ini menggunakan analisis Kruskal Wallis sebagai alternatif yang memiliki fungsi dan tujuan yang sama dengan uji ANOVA. Uji Kruskal digunakan karena data yang di dapatkan

berupa data yang tidak berdistribusi normal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Simplisia dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Hasil simplisia akhir dari 2 kg bahan baku (berat basah) daun belimbing wuluh diperoleh sebesar 300 gram berat kering serbuk simplisia. Hasil ekstrak menggunakan metode maserasi dari 300 gram daun belimbing wuluh dengan pelarut etanol 96% sebanyak 4 liter dan dipekatkan dengan rotary evaporator, memperoleh ekstrak kental sebesar 15,4521 gram dengan rendemen sebesar 5,1507%.

Rendemen simplisia yaitu perbandingan berat simplisia akhir yang diperoleh setelah proses pengeringan bahan baku awal. Hasil rendemen simplisia yang didapat menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh mengalami penurunan berat karena pada proses pengeringan kadar air daun belimbing wuluh berkurang. Prinsip utama dari pengeringan adalah penurunan kadar air untuk mencegah aktivitas mikroorganisme, kadar air yang tinggi dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang, dengan adanya pertumbuhan mikroorganisme dapat merusak dan menurunkan kualitas dari simplisia. Kemudian dilakukan proses remaserasi yang bertujuan untuk menarik kandungan senyawa aktif yang maksimal agar hasil rendemen yang didapatkan cukup besar dan kualitas ekstrak meningkat (Priskila, 2012).

Hasil Standarisasi Simplisia Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Standarisasi adalah suatu proses penjaminan produk akhir (obat) harus

memenuhi persyaratan tertentu, agar mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan dan ditetapkan terlebih dahulu (Nurfiana & Sari, 2018). Hasil standarisasi simplisia daun belimbing wuluh diperoleh nilai kadar sari larut air 11,383 (>5% Syarat MMI), nilai kadar sari larut etanol 14,2780 (>5% Syarat MMI), nilai kadar abu total 7,3894 (<11% Syarat MMI), nilai kadar abu tidak larut asam 0,8449 (<1% Syarat MMI), dan kadar air 6,7927 (<10% Syarat MMI). Dapat disimpulkan berdasarkan hasil standarisasi daun belimbing wuluh yang diperoleh telah memenuhi persyaratan yang sesuai dengan ketentuan Materia Medika Indonesia (MMI)..

Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Skrining fitokimia bertujuan untuk identifikasi awal dalam mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak sebagai langkah penting dalam penentuan potensi aktivitasnya sebagai obat (Simaremare, 2014). Hasil skrining fitokimia daun belimbing wuluh mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid menunjukkan hasil positif ditandai terbentuknya endapan coklat saat ditetesi reagen Wagner, terbentuk endapan putih saat ditetesi reagen Mayer dan terbentuk endapan merah bata saat ditetesi reagen Dragendorff. Positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan menjadi kuning, pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan menggunakan serbuk Mg dan penambahan HCL pekat. Mengandung tanin yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna larutan menjadi larutan hijau kehitaman saat penambahan akuades,

pemeriksaan steroid dan terpenoid dilakukan dengan penambahan pereaksi Lieberman Burchard yang terdiri dari asam asetat dan asam sulfat pekat. Adanya terpenoid akan ditandai dengan timbulnya warna merah sedangkan steroid ditandai dengan munculnya warna biru. Hasil pengamatan uji terpenoid dan steroid didapatkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna biru.

Pengujian Antibakteri

Ekstrak daun belimbing wuluh digunakan sebagai larutan uji dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, dan 60%. Selain itu, larutan yang diujikan berupa kontrol negatif yang diberikan Dimethyl Sulfoxide (DMSO) dan kontrol positif berupa tetrasiklin yang digunakan sebagai larutan pembanding. Penelitian ini menggunakan metode difusi agar dengan cara sumuran untuk menghambat aktivitas antibakteri. Metode difusi agar menggunakan piper disk dengan medium Mueller-Hilton Agar (MHA).

Mueller-Hilton Agar (MHA) merupakan medium yang baik sebagai tempat tumbuhnya beberapa bakteri gram positif dan gram negatif yang dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri yang disterilkan dengan suhu 45-50°C sebanyak 15 ml, selanjutnya media MHA dituang secara aseptik kedalam cawan petri steril agar tidak terkontaminasi dengan jamur atau bakteri lain, dibiarkan hingga membeku. Kemudian pada media MHA dilakukan pembuatan sumuran, selanjutnya dioleskan dengan 0,2 ml suspensi bakteri yang telah disiapkan sebelumnya. Masing-masing konsentrasi sampel diambil menggunakan mikropipet sebanyak 25µl. Metode ini dilakukan untuk mengetahui besarnya diameter hambatan yang terbentuk pada

bakteri *Staphylococcus aureus*, setelah masa inkubasi selama 24 jam, larutan ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) akan berdifusi keluar untuk menghambat pertumbuhan mikroba pada medium, yang ditandai dengan adanya zona hambat bening yang terdapat di sekeliling *piper disk*. Zona hambat yang terbentuk inilah yang kemudian diukur diameternya. Zona hambat yang terbentuk di daerah sumuran dihitung menggunakan jangka sorong dengan ketelitian ukurannya milimeter (mm). Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri

No.	Konsentrasi %	Zona Hambat (mm)			
		U ₁	U ₂	U ₃	Rata-rata
1.	Tetrasiklin (K+)	33,73	33,92	34,04	33,89
2.	DMSO (K-)	0	0	0	0
3.	10%	11,05	11,09	11,03	11,06
4.	20%	12,80	12,51	12,57	12,63
5.	40%	13,53	13,48	13,28	13,43
6.	60%	14,15	14,23	14,10	14,16

Keterangan : U = Ulangan

Sumber : Heri Mulyadi

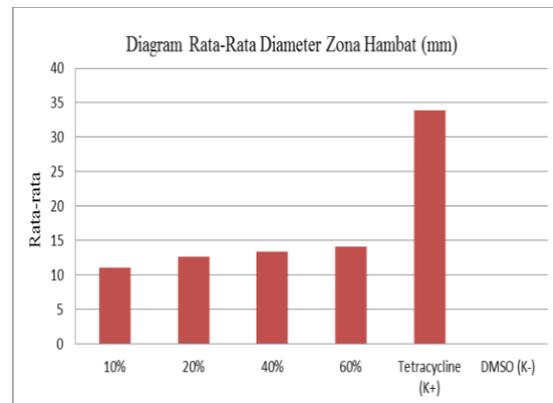
Berdasarkan hasil dari pengukuran diameter hambatan dari sampel uji terlihat jelas bahwa setiap konsentrasi sampel memberikan ukuran diameter hambatan yang berbeda-beda. Aktivitas antibakteri daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk. Pada perlakuan konsentrasi 10% dengan masa inkubasi 24 jam, zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata berdiameter 11,06 mm, pada perlakuan konsentrasi 20% dengan masa inkubasi 24 jam, zona hambat pada bakteri

uji *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata berdiameter 12,63 mm, pada perlakuan konsentrasi 40% dengan masa inkubasi 24 jam, zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata berdiameter 13,43 mm, pada perlakuan konsentrasi 60% dengan masa inkubasi 24 jam, zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata berdiameter 14,16 mm.

Untuk membandingkan aktivitas antibakteri daun belimbing wuluh dengan antibakteri sebagai larutan pembanding maka digunakan antibiotik yaitu Tetracycline yang diambil menggunakan mikropipet sebanyak 25 μ l untuk diuji aktivitas antibakterinya sebagai uji kontrol positif, zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan nilai rata-rata berdiameter 33,89 mm. Kontrol negatif yang digunakan larutan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) tidak terbentuk zona hambat di sekitar sumur pada bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO yang digunakan sebagai pelarut pembuatan variasi konsentrasi tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga aktivitas antibakteri hanya berasal dari larutan uji bukan pelarut yang digunakan.

Maka dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri dalam ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* meski tidak sebanding dengan kontrol positif yang diberikan antibiotik Tetracycline. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh yang dibuat dengan beberapa konsentrasi yaitu: 10%, 20%, 40%, dan 60% menunjukkan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi pula zona bening atau

aktivitas daya hambatnya. Diagram nilai rata-rata diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4 berikut.



Gambar 4. Diagram rata-rata diameter zona hambat (mm)

Sumber : Heri Mulyadi

Selanjutnya dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS. Selanjutnya dilakukan analisis statistik, sebelum ditentukan jenis SPSS mana yang akan digunakan maka terlebih dahulu dilakukan pengujian normalitas data. Uji normalitas mempunyai ketetapan yaitu H_0 : data berdistribusi normal, H_a : data tidak berdistribusi normal. Tolak H_0 apabila $Sig < 0,05$. Data penelitian ini menunjukkan nilai $Sig = 0,038$ yang lebih kecil dari taraf signifikansi 0,05, maka H_0 dapat ditolak. Artinya, data tidak berdistribusi normal. Karena data tidak mengikuti distribusi normal, maka tidak bisa digunakan uji beda rerata parametrik yaitu ANOVA sehingga sebagai alternatif digunakan uji Kruskal Wallis yang memiliki fungsi dan tujuan yang sama dengan uji ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji analisis Mann-Whitney.

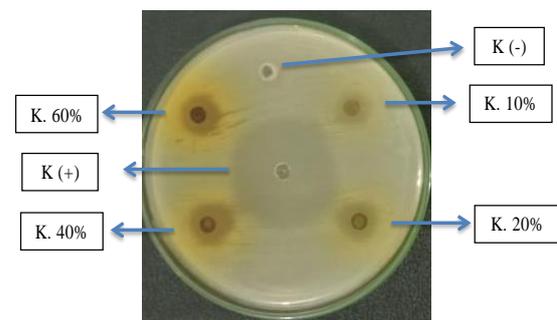
Hasil uji Kruskal-Wallis untuk zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh yang dibandingkan dengan kontrol memiliki nilai signifikan yaitu $p < 0,005$ yang lebih kecil dari taraf

signifikansi $p < 0,05$ sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. H_1 menyatakan bahwa terdapat perbedaan zona hambat (mm) antar keenam faktor konsentrasi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil dari uji Kruskal-Wallis yang memiliki signifikan $p < 0,05$ maka akan dilakukan uji lanjutan Mann-Whitney untuk membandingkan antara dua perlakuan. Hasil perbandingan perbedaan antara perlakuan kontrol negatif yang diberikan DMSO dengan perlakuan kontrol positif yang diberikan Tetracycline diperoleh nilai Sig $p < 0,037$ yang lebih kecil dari taraf signifikansi $p < 0,05$. Dengan demikian, H_0 dapat ditolak. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan zona hambat (mm) antar konsentrasi perlakuan kontrol negatif dan perlakuan kontrol positif. Perbedaan bermakna juga ditunjukkan pada perlakuan kontrol negatif dengan perlakuan bertingkat ekstrak etanol daun belimbing wuluh, yang mana sama-sama mendapatkan nilai diameter zona hambat (mm) sebesar $p < 0,037$ yang lebih kecil dari taraf signifikansi $p < 0,05$ sehingga H_0 dapat ditolak, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan zona hambat (mm) antar konsentrasi.

Namun tidak terdapat perbedaan diameter zona hambat (mm) antar perbandingan konsentrasi kontrol positif dengan konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Kontrol positif yang diberikan Tetracycline dengan konsentrasi bertingkat ekstrak etanol daun belimbing yaitu 10%, 20%, 40%, dan 60% sama-sama mendapatkan nilai diameter zona hambat (mm) sebesar $p < 0,05$ yang sama dengan taraf signifikansi $p < 0,05$ sehingga H_0 diterima dan H_1 ditolak, maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan diameter zona hambat (mm)

antar konsentrasi. Begitu pula pada perbandingan antar perlakuan ekstrak umbi bit sama-sama memberikan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang sama dengan taraf signifikansi $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan diameter zona hambat (mm) antar konsentrasi. Zona bening ekstrak daun belimbing wuluh pada media yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 5 berikut.



Gambar 5. Zona bening ekstrak daun belimbing wuluh pada media yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus*
Sumber : Heri Mulyadi

Keterangan :

- K (+) = Kontrol positif
- K (-) = Kontrol negatif
- K. 10% = Konsentrasi 10%
- K. 20% = Konsentrasi 20%
- K. 40% = Konsentrasi 40%
- K. 60% = Konsentrasi 60%

Zona hambat yang terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 60%, 40%, 20%, dan 10% yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini juga didukung dalam penelitian yang dilakukan oleh Destriani, bahwa didapatkan 14 isolat bakteri endofitik dari tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang menghasilkan antibiotika, 6 isolat bakteri memiliki zona jernih terhadap *E. coli*, 14 isolat bakteri

terhadap *Staphylococcus aureus* dan 6 isolat bakteri terhadap *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan tumbuhan belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Desriani, dkk., 2014). Walaupun tidak sebanding dengan kontrol positif yang diberikan Tetracycline yang memiliki diameter zona hambat yang paling besar, sedangkan kontrol negatif dengan pemberian DMSO tidak terbentuknya diameter zona hambat pada media yang ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Noviana (2011), menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin baik efek yang dihasilkan. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat dan kuvaini (2015) juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun surian akan menghasilkan daya hambat yang semakin baik pula. Menurut beberapa penelitian sebelumnya ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasil uji daya hambat yaitu kandungan zat antibakteri pada belimbing wuluh. Kandungan antibakteri tersebut adalah flavonoid, tripenoid, tanin, dan saponin (Datu dan Mita, 2015).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat (mm).
2. Konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang memiliki zona hambat yang paling besar dalam menghambat

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 60%.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak etanol daun belimbing wuluh sebagai antibakteri yang diperoleh dari metode lain contohnya metode dilusi agar dapat mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh.
2. Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut pada ekstrak daun belimbing wuluh untuk mengetahui senyawa aktif yang lebih berperan sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Yuliansyah dan Fariz Muhammad. (2015): "Pengaruh Penambahan Sari Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai Acidifier dalam Pakan Ternak Kualitas Internal Telur Ayam Petelur". *Jurnal Nutrisi Ternak*, Vol.1, No.1.
- Triana, D. (2014). Frekuensi β -Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Gradien*. Vol 10(2) .
- Lukman, A. (2016). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap bakteri patogen dengan metode KLT Bioautografi. *Skripsi*.
- Ngajow, Mercy, dkk. "Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

- secara In vitro". *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 2, no.2 (2013): h. 131-132.
- Febrianasari, F. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Krinyu (*Choromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Senata Dharma Yogyakarta.
- Priskila V. 2012. Uji Stabilitas Fisik dan Uji Aktivitas Pertumbuhan Rambut Tikus Putih Jantan dari Sediaan Hair Tonic yang Mengandung Ekstrak Air Bonggol Pisang Kepok (*Musa balbisiana*). *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Nurfiana, G., & Sari, F. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Herba Ciplukan (*Physalis Angulata*) Terhadap Dpph (*1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*). 1, 98–103.
- Noviana E. 2011. Uji Potensi Ekstrak Daun Suren (*Toona sureni*) sebagai insektisida ulat grayak pada tanaman kedelai. *Skripsi*. Surakarta : Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.
- Desriani D, Safira UM, Bintang M, Rivai A, Lisdiyanti P. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman binahong dan katepeng china. *Jurnal Kesehatan Andalas*.
- Datu T, Mita N RR. 2015. Aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap *Psudomonans aeruginosa*. *Skripsi*. Kalimantan : Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman.
- Hidayat Y dan Kuvaini A,. 2015. Keefektifan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dalam pengendalian larva boktor (*Xystrocera festiva Fascoe*). *Agrikultura*.