

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L*)
TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumonia*
SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



Oleh :

FIRSTY DWI HIDAYATI SIRAIT

1508260036

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2019**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK
DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L*)
TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae*
SECARA IN VITRO**

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Kelulusan Sarjana
Kedokteran**



Oleh :

FIRSTY DWI HIDAYATI SIRAIT

1508260036

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2019**

HALAMAN PERYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : FIRSTY DWI HIDAYATI SIRAIT
NPM : 1508260036
Judul skripsi : Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Secara In Vitro.

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 20 Januari 2019



(Firsty Dwi Hidayati Sirait)



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH
SUMATERA UTARA**
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Gedung Arca No. 51 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488
Website: fakultas.kedokteran.umsu.ac.id

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Firsty Dwi Hidayati Sirait
NPM : 1508260036
Judul : Uji Efektivitas Antibakteri Daun Belimbing Wuluh
(*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Secara *In Vitro*.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(dr. Yenita, M.Biomed)

NIDN : 0101017014

Penguji 1

(dr. Ance Roslina, M.kes)
NIDN : 0126067002

Penguji 2

(dr. Ilham Hariaji, M.Biomed)
NIDN : 0131107901

Mengetahui,

Dekan FK-UMSU

(Prof. dr. H. Gusbaki Rusip, M.Sc, PKK, AIFM)
NIP/NIDN : 1957081719900311002/0109048203

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter
FK UMSU

(dr. Hendra Sutysna, M.Biomed)
NIDN : 0109048203

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 11 Februari 2019

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullahiwabarokatuh

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan hidayah-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Secara In Vitro”**

Alhamdulillah, sepenuhnya penulis menyadari bahwa selama penyusunan dan penelitian skripsi ini, penulis banyak mendapat dukungan, bimbingan, arahan dan bantuan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini. Ilmu, kesabaran dan ketabahan yang diberikan semoga menjadi amal kebaikan baik di dunia maupun di akhirat. Adapun tujuan didalam penulisan ini adalah untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana kedokteran di Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara (UMSU).

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih serta penghormatan yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan dan bantuan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Ayahanda Drs. Edy Herman Sirait, M.Pd dan Ibunda Kartina Kutis, M.Pd yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral.
3. Prof. Dr. Gusbakti Rusip, M.Sc., PKK.,AIFM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. dr. Yenita, M.Biomed selaku dosen pembimbing, yang telah mengarahkan dan memberikan bimbingan, terutama selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
5. dr. Ance Roslina, M.Kes yang telah bersedia menjadi dosen penguji satu dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
6. dr. Ilham Hariaji, M.Biomed yang telah bersedia menjadi dosen penguji dua dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.

7. Seluruh staf pengajar di Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara yang telah membagi ilmunya kepada penulis, semoga ilmu yang diberikan menjadi ilmu yang bermanfaat hingga akhir hayat kelak.
8. Sejawat satu kelompok bimbingan Dhifo Indratama yang telah saling membantu dan memberikan dukungan.
9. Zuliansah Mauludin yang telah memberikan semangat luar biasa dan membantu mendoakan dari jauh agar skripsi ini selesai secepatnya.
10. Rido Rais Hutabarat yang telah membantu mengerjakan artikel saya dengan penuh semangat.
11. Nurhakiki Zahara Arif yang telah membantu saya memeriksa abstrak dan memperbaiki terjemahan yang salah.
12. Kerabat-kerabat yang telah mendukung saya selama Bella Ayu Aprilya, Rahmah Evelin Lubis, Rizki Amalia Dalimunthe, Diza Tanzira, Mutia Aryu Fitria, dan teman-teman sejawat 2015 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Medan, 20 januari 2019

Penulis

(Firsty Dwi Hidayati Sirait)

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA TULIS ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Firsty Dwi Hidayati Sirait

NPM : 1508260036

Fakultas : Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas karya tulis ilmiah saya yang berjudul :

“Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Secara In Vitro” beserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media atau formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian kpernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 20 Januari 2019

Yang menyatakan,

(Firsty Dwi Hidayati Sirait)

ABSTRAK

Latar belakang : Penyakit infeksi merupakan penyakit terbanyak di Indonesia. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Banyak tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional, salah satunya tanamannya adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). **Tujuan :** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro. **Metodologi :** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Teknik yang digunakan untuk mengukur aktivitas antibiotik adalah metode difusi cakram. Data diolah menggunakan SPSS uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan Mann-Whitney untuk uji beda. **Hasil penelitian :** Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100%, cefotaxime dan aquadest tidak ada yang menghasilkan zona bening. **Kesimpulan :** Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Kata kunci : Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*), *Klebsiella pneumoniae*.

ABSTRACT

Background : *Infection is the most common disease in Indonesia. Infection diseases are caused by microorganisms such as the Klebsiella pneumoniae. While in fact, many plants can be used as traditional medicine, one of those is the leaves of Cucumber tree (Averrhoa bilimbi L)* **Objective :** *This study aims to determine the inhibitory power of leaves of Cucumber tree (Averrhoa bilimbi L) on growth of Klebsiella pneumoniae in vitro.* **Methodology :** *This study used an experimental method. The technique used to measure antibiotic activity is the method of disk diffusion and continued by Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney test* *Leaves of Cucumber tree (Averrhoa bilimbi L) at concentrations of 40%, 60%, 80%, 100%, cefotaxime, and aquadest shows no clear zone* **Conclusion :** *leaves of Cucumber tree (Averrhoa bilimbi L) does not have an inhibitory power against Klebsiella pneumoniae.*

Key word : *Leaves of Cucumber tree (Averrhoa bilimbi L), Klebsiella pneumoniae.*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	ii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	ivi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI.....	ixi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	2
1.3 Hipotesis.....	3
1.4 Tujuan penelitian.....	3
1.4.1 Tujuan umum	3
1.4.2 Tujuan khusus	3
1.5 Manfaat penelitian.....	3
BAAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>).....	4
2.1.1. Taksonomi Tanaman Belimbing Wuluh.....	4
2.1.2. Morfologi belimbing wuluh.....	4
2.1.3. Kandungan kimia tanaman belimbing wuluh	6
2.1.4. Manfaat tanaman belimbing wuluh	7
2.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
2.2.1 Taksonomi dari <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8

2.2.2	Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
2.2.3	Patogenesis <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
2.3	Antibiotik	10
2.3.1	Cefotaxime	10
2.3.2	Farmakologi Cefotaxime	10
2.4	Antioksidan	11
2.5	Uji Kepekaan Antibiotik	12
2.5.1	Metode Dilusi	12
2.5.1.1	Metode dilusi cair (<i>broth dilution test</i>)	12
2.5.1.2	Metode dilusi padat (<i>solit dilution test</i>)	13
2.5.2	Metode Difusi	13
2.5.2.1	Metode Difusi	13
2.5.2.2	<i>E-test</i>	13
2.5.2.3	<i>Ditch-plate technique</i>	13
2.5.2.4	<i>Cup-plate technique</i>	14
2.5.2.5	<i>Gradient-plate technique</i>	14
2.6	Metode Ekstrak	14
2.7	Kerangka Teori	16
2.8	Kerangka Konsep	17
 BAB 3 METODE PENELITIAN		18
3.1	Defenisi Operasional	18
3.2	Jenis Penelitian	19
3.3	Waktu dan tempat penelitian	20
3.4	Jumlah Pengulangan	20
3.5	Teknik pengumpulan data	22
3.5.1	Alat dan bahan penelitian	22
3.5.2	Cara kerja	23
3.5.2.1	Identifikasi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
3.5.2.2	Identifikasi daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>)	24

3.5.2.3 Cara pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L).....	24
3.5.2.4 Pengenceran ekstrak.....	26
3.5.2.5 Uji daya hambat (difusi).....	27
3.6 Pengolahan data	28
3.7 Alur penelitian.....	29
3.8 Analisis data	30
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Hasil Penelitian	31
4.1.1 Skrining Fitokimia Bahan Alam.....	31
4.1.2 Hasil Pengukuran Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	32
4.2 Pembahasan.....	32
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Variabel Operasional.....	18
Tabel 3.2 Tabel pelaksanaan penelitian	20
Tabel 3.3 Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat.	22
Tabel 3.4 Volume Ekstrak Daun Belimbing Wuluh yang dibutuhkan pada penelitian.....	26
Tabel 3.5 Volume kontrol yang dibutuhkan pada penelitian	27
Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia senyawa bahan alam	31
Tabel 4.2 Hasil pengukuran daya hambat bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>).....	6
Gambar 2.2 Bakteri batang gram negatif <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada pewarnaan gram.....	9
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....	16
Gambar 2.4 Kerangka Konsep.....	17
Gambar 3.1 Alur penelitian.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Dokumentasi.....	40
Lampiran 2 : Etik Penelitian.....	44
Lampiran 3 : Identifikasi Tumbuhan.....	45
Lampiran 4 : Skrining Fitokimia.....	46
Lampiran 5 : Daftar Riwayat Hidup	47

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu penyakit yang terus berkembang dari waktu ke waktu dalam bidang kedokteran ialah penyakit infeksi. Kasus infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme patogen, yang masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan. Gejala klinis sebagai akibat adanya infeksi bisa sembuh kembali secara sempurna (kelainan patologinya reversibel) atau sembuh tetapi dengan gejala sisa (kelainan patologinya ireversibel)¹

Klebsiella dijumpai tersebar luas dilingkungan dan sebagai flora usus manusia dan hewan mamalia lainnya. Infeksi sering bersifat oportunistik dan terjadi pada pasien rawat inap, terutama di unit perawatan intensif. Penyakit-penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* antara lain, pneumonia, infeksi traktus urinarius dan luka, dan bakteremia. Penyakit tersebut biasanya ditemukan pada pasien-pasien neonatal, pasien dengan sistem imun yang terganggu, pasien yang sedang mendapatkan perawatan intensif di ruang ICU. Dapat terjadi ledakan kasus infeksi nosokomial (*hospital acquired infection*). *Klebsiella pneumoniae* masih menjadi penyebab utama penyakit pneumonia pada masyarakat di beberapa negara. Di Taiwan, dan beberapa negara lainnya juga ditemukan penyakit *pyogenic liver abscess* yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae*.^{2,3}

Di zaman modern ini infeksi bakteri menjadi salah satu penyebab infeksi paling sering dijumpai, sehingga penggunaan antibiotik adalah hal yang paling tepat dalam mengatasi infeksi.⁵ Sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat sehingga muncul berbagai macam *Multi Drug Resistance Organisme* (MDROs) sehingga antibiotik tidak sensitif lagi terhadap bakteri.^{4,5}

Di era sekarang ini banyak tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai penyakit termasuk infeksi, karena banyak orang beranggapan bahwa penggunaan obat tradisional relatif lebih aman

dibandingkan bahan kimia. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat. Salah satu diantara adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*).^{6,7}

Menurut penelitian, karakteristik fisik-kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan metode maserasi. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) sebanyak 2 faktor. Faktor pertama yaitu pelarut (air dan etanol 70%) dan faktor kedua yaitu rasio bahan : pelarut b/v) (1:4; 1:5; 1:6) diulang 3 kali. Hasilnya perlakuan jenis pelarut yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap rendemen, total fenol, dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Pemberian rasio bahan:pelarut (b/v) yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap rendemen ekstrak daun belimbing wuluh.⁸

Untuk itu peneliti ingin membuktikan kebenaran pengaruh pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro?

1.3 Hipotesis

Ada efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.

1.4 Tujuan penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk membuktikan efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.

1.4.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui efektivitas antibiotik pada ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.
2. Untuk mengetahui konsentrasi efek antibiotik yang paling efektif dari ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) pada konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.

1.5 Manfaat penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah:

1. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah khususnya untuk para klinisi tentang efektivitas antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.
2. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk bahan referensi yang terkait pengobatan terhadap *Klebsiella pneumoniae*.
3. Menambah pengetahuan dalam melaksanakan penelitian tentang efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

Belimbing adalah nama Melayu untuk jenis tanaman buah dari keluarga *Oxalidaceace*, marga *Averrhoa*. Tanaman belimbing dibagi menjadi dua jenis, yaitu belimbing manis (*Averrhoa carambola* L) dan belimbing asam (*Averrhoa bilimbi* L) atau lazim pula disebut belimbing wuluh. Tumbuhan ini berasal dari Kepulauan Maluku dan menyebar ke seluruh bagian Negara Indonesia. Sebutan belimbing wuluh berbeda-beda tiap daerah, antara lain limeng (Aceh), asom belimbing (Batak), malimbi (Nias), blimbing wuluh (Jawa), calincing wulet (Sunda), blingbling buloh (Bali).¹²

2.1.1. Taksonomi Tanaman Belimbing Wuluh

Taksonomi tanaman belimbing wuluh sebagai berikut:⁹

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Geraniales</i>
Suku	: <i>Oxalidaceae</i>
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Spesies	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L

2.1.2. Morfologi belimbing wuluh

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) merupakan tumbuhan berjenis pepohonan yang hidup di ketinggian 5-500 meter di atas permukaan laut. Pada umumnya di tanam sebagai usaha sampingan, bentuknya pendek, letak cabangnya yang rendah, bergelombang dan diameternya kira-kira 30cm. Pohon ini biasanya

tumbuh di tempat yang terkena cahaya matahari langsung dan di tanah yang cukup lembab.¹³

A. Batang

Batang nya memiliki ketinggian mencapai kurang lebih 15 meter dengan percabangan yang sedikit, berbentuk tegak, permukaan kasar, banyak tonjolan, dan berwarna hijau kotor.^{9,13}

B. Daun

Daun berbentuk daun majemuk, menyirip, anak daun 25-45 pasang anak daun yang berselang-seling atau setengah berpasangan, bulat telur, ujung meruncing, pangkal membulat, panjang membulat, panjang 7-10 cm, lebar 1-3 cm, bertangkai pendek, dan berwarna hijau.^{9,13}

C. Bunga

Bunga belimbing wuluh berkelompok, keluar dari batang atau cabang yang besar. Ukuran bunga kecil-kecil berbentuk bintang, warnanya ungu kemerahan, berada pada tonjolan batang dan cabang, panjang 5-20 cm, kelopak lebih kurang 6 mm, daun mahkota bergandengan, berbentuk lanset.^{9,13}

D. Buah

Buah belimbing wuluh berbentuk elips seperti torpedo dengan panjang 4-10 cm. Buah muda berwarna hijau dengan sisa kelopak bunga yang menempel di ujungnya. Sedangkan buah yang masak berwarna kuning atau kuning pucat, daging buah berair dan sangat asam. Kulit buah berkilap dan tipis.¹³

E. Akar

Akar pohon adalah tunggang dan berwarna coklat kehitaman. Tumbuhan ini lebih sering hidup liar dan biasanya di tanam untuk dijadikan pohon buah.^{9,13}



Gambar 2.1 Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)¹⁴

2.1.3. Kandungan kimia tanaman belimbing wuluh

Tanaman belimbing wuluh ini sangat banyak mengandung vitamin C alami yang berguna sebagai daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit, selain itu juga mengandung vitamin B1, niacin, asam askorbat, ribovlavin, dan juga mineral seperti fosfor, kalsium, dan besi.¹³

Tanaman belimbing wuluh mengandung zat flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.¹⁴ Senyawa aktif ini memiliki efek antioksidan dan antibakteri yang mekanisme kerja yang berbeda-beda. Flavonoid berfungsi menjaga pertumbuhan dan mempertahankan terhadap pengaruh infeksi dan kerusakan. Mekanisme kerja flavonoid yaitu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler.⁹ Tanin berfungsi sebagai pertahanan melawan jamur dan bakteri pathogenik serta melawan pemakannya seperti serangga dan herbivora.¹⁵

Sedangkan saponin berfungsi sebagai anti hiperglikemik dengan cara mencegah pengambilan glukosa pada *brush border* di usus halus. Mekanisme kerja dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri karena saponin memiliki komponen aktif *aglycone* yang bersifat membranolitik, lalu membentuk

komplek sterol untuk membentuk *single ion channel*. *Single ion channel* menyebabkan ketidakstabilan membran sel sehingga menghambat aktivitas enzim, terutama enzim-enzim yang berperan dalam transpor ion yang berperan dalam pertumbuhan bakteri.⁸

Pada triterpenoid memiliki struktur berstruktur siklik yang keanyakannya berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Mekanisme kerja bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada luar membran sel dinding bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat.¹³

2.1.4. Manfaat tanaman belimbing wuluh

Tanaman belimbing wuluh dapat dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Bagian yang digunakan diantaranya bunga, buah, daun, dan batangnya. Bunga belimbing wuluh digunakan sebagai obat batuk dan sariawan. Buah belimbing wuluh selain bumbu masak, juga dapat digunakan sebagai obat menurunkan tekanan darah tinggi, gusi berdarah, jerawat dan batuk. Daun belimbing wuluh sebagai penyedap rasa dan juga obat batuk, obat kompres, pada sakit gondokan, dan rematik. Sedangkan batang belimbing wuluh biasanya digunakan sebagai obat sakit perut.¹⁶

2.2 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif berukuran 2,0 – 3,0 x 0,6 µm, merupakan flora normal pada saluran usus dan pernafasan, hidup fakultatif anaerob. *Klebsiella pneumoniae* mempunyai kapsul yang besar sehingga pada kultur koloninya terlihat sangat mukoid. *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan infeksi pada paru-paru misalnya pneumonia, infeksi saluran kemih, dan sepsis pada penderita dengan daya tahan tubuh yang lemah.¹⁷

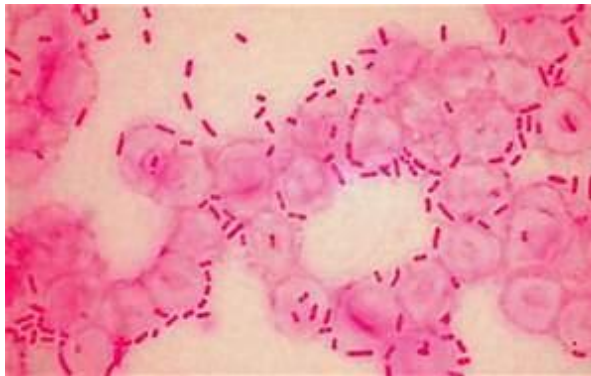
2.2.1. Taksonomi dari *Klebsiella pneumonia*

Domain	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Species	: <i>Klebsiella pneumoniae</i>

2.2.2. Morfologi *Klebsiella pneumoniae*

Morfologi khas dari *Klebsiella pneumoniae* dapat dilihat dalam pertumbuhan padat in vitro tetapi morfologinya sangat bervariasi dalam bahan klinik. Biasanya *Klebsiella pneumoniae* simpanya besar dan teratur. Selain itu *Klebsiella pneumoniae* koloninya besar, sangat mukoid dan cenderung bersatu apabila dieramkan. Anggota dari genus *Klebsiella* memiliki struktur antigen yang kompleks. Lebih khususnya, anggota genus *Klebsiella* memiliki 2 tipe antigen pada permukaan sel. Yang pertama adalah antigen O yang merupakan bagian terluar dari lipopolisakarida dinding sel dan terdiri atas unit polisakarida yang berulang. Beberapa polisakarida O spesifik mengandung gula yang unik. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan aglutinasi bakteri. Antibodi terhadap antigen O terutama adalah IgM. Yang kedua adalah antigen K. Antigen K ini berada di luar antigen O dan merupakan suatu kapsular polisakarida. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi melalui antiserum O dan berhubungan dengan virulensi.¹⁷

Klebsiella pneumoniae mempunyai simpai besar yang terdiri atas polisakarida (antigen K) yang menutupi antigen somatic (O atau H) dan dapat dikenali dengan pembengkakan simpai melalui tes pembengkakan simpai dengan antiserum khusus. Infeksi pada saluran nafas manusia disebabkan terutama oleh jenis simpai 1 dan 2, pada saluran kemih terutama disebabkan oleh jenis simpai 8, 9, 10, dan 24.¹⁷



Gambar 2.2 Bakteri batang gram negatif *Klebsiella pneumoniae* pada pewarnaan gram.¹⁶

2.2.3. Patogenesis *Klebsiella Pneumonia*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri enterik yang kadang - kadang ditemukan dalam jumlah kecil sebagai flora normal saluran napas atas. Bakteri enterik biasanya tidak menyebabkan penyakit dan mungkin di dalam usus berperan terhadap fungsi dan nutrisi normal. Bakteri menjadi patogen apabila bakteri berada dalam jaringan diluar jaringan usus yang normal atau di tempat yang jarang terdapat flora normal. Bakteri enterik juga dapat menyebabkan infeksi yang didapat dari rumah sakit (nosokomial) dan terkadang menyebabkan infeksi yang didapat dari komunitas.¹⁷

Faktor virulensi bakteri yang mempengaruhi patogenesis pada tubuh manusia adalah kapsul polisakarida, endotoksin, reseptor dinding sel. *Klebsiella pneumoniae*. memiliki kapsul besar yang terdiri dari polisakarida K yang menutupi antigen somatik dan dapat diidentifikasi menggunakan tes quellung dengan antiserum khusus. Struktur kapsul tersebut berfungsi melindungi bakteri

dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear, dan mencegah kematian bakteri oleh serum bakterisidal. Adanya antigen pada kapsul yang dimiliki *Klebsiella pneumoniae* meningkatkan patogenitas bakteri. Infeksi sistem pernafasan oleh *Klebsiella pneumoniae* umumnya disebabkan oleh kapsular antigen tipe 1 dan 2.^{17,18}

Reseptor dinding sel yang dimiliki bakteri memungkinkan *Klebsiella pneumoniae* melekat pada sel host, mengubah permukaan bakteri sehingga fagositosis oleh leukosit polimorfonuklear dan makrofag terganggu, dan invasi sel inang non-fagositik terfasilitasi. Invasi pada sel inang ini juga dipengaruhi oleh kapsul polisakarida yang mengelilingi sel bakteri, dan setelah itu *Klebsiella pneumoniae* memproduksi endotoksin.¹⁹

Endotoksin merupakan liposakarida kompleks yang terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif. Efek biologi endotoksin dapat menyebabkan demam, leukopenia, pendarahan kapiler, hipotensi, kolaps sirkulasi.²⁰

2.3 Antibiotik

2.3.1 Cefotaxime

Cefotaxime adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga. Penemu sefalosporin adalah Brotzu pada tahun 1948 berasal dari jamur *Cephalosporium acremonium*. Fungus ini menghasilkan tiga jenis antibiotik, yaitu sefalosporin P, sefalosporin N dan sefalosporin C. Struktur dasarnya Asam 7-amino-sefalosporanat (*7-aminocephalosporanic acid*), 7-ACA yang merupakan kompleks cincin dihidrotiazin cincin β -laktam.^{22,23}

2.3.2 Farmakologi Cefotaxime

Cefotaxime adalah antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga yang mempunyai khasiat bakterisidal dan bekerja dengan menghambat sintesis mukopeptida pada dinding sel bakteri. Cefotaxime memiliki aktivitas spektrum lebih luas terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Aktivitas cefotaxime lebih besar terhadap bakteri gram negatif sedangkan aktivitas terhadap bakteri gram positif lebih kecil, tetapi beberapa *streptococci* sangat sensitif terhadap

cefotaxime. Cefotaxime sangat stabil terhadap hidrolisis β -laktamase, maka cefotaxime digunakan sebagai alternatif lini pertama pada bakteri yang resisten terhadap penisilin.^{23,24}

Pada pengobatan dengan cefotaxime, bila pasien memiliki volume distribusi sangat kecil, sebagian besar ada obat didalam darah. Obat ini sangat aktif dengan berbagai kuman Gram-positif maupun Gram-negatif aerobik. Aktivitasnya terhadap *B. fragilis* sangat lemah dibandingkan dengan klindamicin dan metinidazole. Waktu paruh plasma sekitar 1 jam dan diberikan tiap 6 sampai 12 jam. Metabolitnya ialah *desasetilsefotasim* yang kurang aktif. Obat efektif untuk pengobatan meningitis oleh bakteri Gram-negatif. Cefotaxime tersedia dalam bentuk bubuk obat suntik 1,2 dan 10 g. Cefotaxime sodium efektif untuk pengobatan infeksi serius yang disebabkan oleh mikroorganisme yang sensitif, seperti pada: infeksi saluran nafas bagian bawah, infeksi saluran kemih dan kelamin, infeksi ginekologikal, bakteremia/septicemia, infeksi kulit dan jaringan lunak.^{22,23,24}

2.4 Antioksidan

Antioksidan secara biologis adalah senyawa yang menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat. Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya superoksida, dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase), vitamin (misalnya E, C, A dan *beta-karoten*), dan senyawa lain (flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain). Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif. Enzim-enzim tersebut merupakan metaloenzim yang aktivitasnya sangat tergantung pada adanya ion logam. Antioksidan enzimatis bekerja dengan cara mencegah terbentuknya senyawa radikal bebas baru.^{20,21}

Di samping antioksidan yang bersifat enzimatis, ada juga antioksidan non-enzimatis yang dapat berupa senyawa nutrisi maupun non-nutrisi. Kedua kelompok antioksidan non-enzimatis ini disebut juga antioksidan sekunder karena

dapat diperoleh dari asupan bahan makanan, seperti vitamin C, E, A dan *beta-karoten*. Glutation, asam urat, bilirubin, albumin dan flavonoid juga termasuk kelompok ini. Senyawa-senyawa itu berfungsi menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Komponen-komponen tersebut tidak kalah penting perannya dalam menginduksi status antioksidan tubuh. Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Manfaat dari antioksidan berfungsi untuk mencegah kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain lain.²¹

2.5 Uji Kepekaan Antibiotik

Kegunaan uji kepekaan ini adalah untuk mengetahui suatu hasil dalam menghambat pertumbuhan bakteri terhadap agen antibakteri. Penentuan kepekaan bakteri terhadap antimikroba dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi dan difusi.²⁵

2.5.1. Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurunkan secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkan. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu.^{25,26}

2.5.1.1 Metode dilusi cair (*broth dilution test*)

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitor concentration*) atau KMH (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat pengenceran agen mikroba pada medium cair yang ditambah dengan mikroba uji. Larutan uji agen mikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KMH. Larutan yang ditetapkan sebagai KMH tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan di inkubasi selama 18-24

jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.^{25,26}

2.5.1.2 Metode dilusi padat (*solit dilution test*)

Metode ini serupa dengan metode cair namun menggunakan media padat (solit). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen mikroba yang di uji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba.²⁵

2.5.2. Metode Difusi

2.5.2.1 Metode Difusi

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen mikroba. Piringan yang berisi agen mikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar.²⁵

2.5.2.2 *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KMH (kadar hambat minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.²⁵

2.5.2.3 *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakan pada parit yang digunakan dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.²⁵

2.5.2.4 *Cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan *disc diffusion*, diaman dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.²⁵

2.5.2.5 *Gradient-plate technique*

Pada metode ini konsentrasi agen mikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media agar dicairkan dan dilarutkan uji ditambahkan. Campurkan kemudian dituang kedalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang diatasnya.²⁵

Plate di inkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen mikroba berfungsi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah.²⁵

2.6 Metode Ekstrak

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan massa zat aktif dalam pelarut tersebut. Umumnya zat berkhasiat tersebut dapat ditarik, namun khasiatnya tidak berubah. Tujuan utama ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan.²⁶

1. Maserasi

Maserasi berasal dari kata "*macerace*" artinya melunakkan. Maserat adalah hasil penarikan simplisia dengan cara maserasi. Maserasi merupakan proses paling cepat dimana obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat mudah larut. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi. Maserasi merupakan cara yang sederhana, maserasi dilakukan dengan cara merendam haksel simplisisa dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel, maka larutan yang pekat akan didesak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa etanol, atau

pelarut lain. Keuntungan ekstraksi ini adalah cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Pelarut merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi, sehingga pada pemilihan pelarut untuk ekstraksi mempertimbangkan banyak faktor.^{26,27}

2. *Ultrasound-Assisted Solvent Extraction*

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.^{26,27}

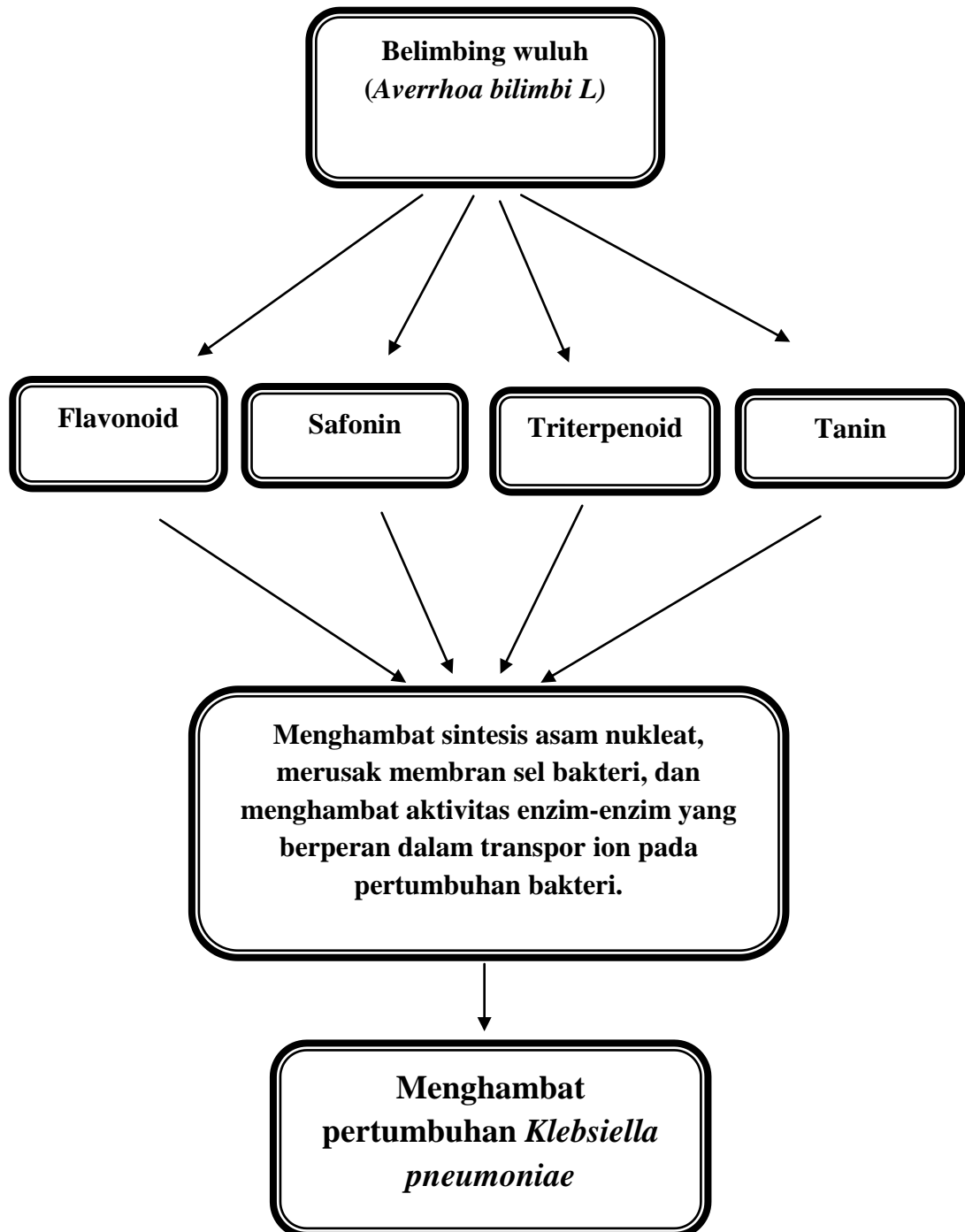
3. Perlokasi

Pada metode ini serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perlocator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perlokator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan menekan banyak waktu.²⁷

4. Soxlet

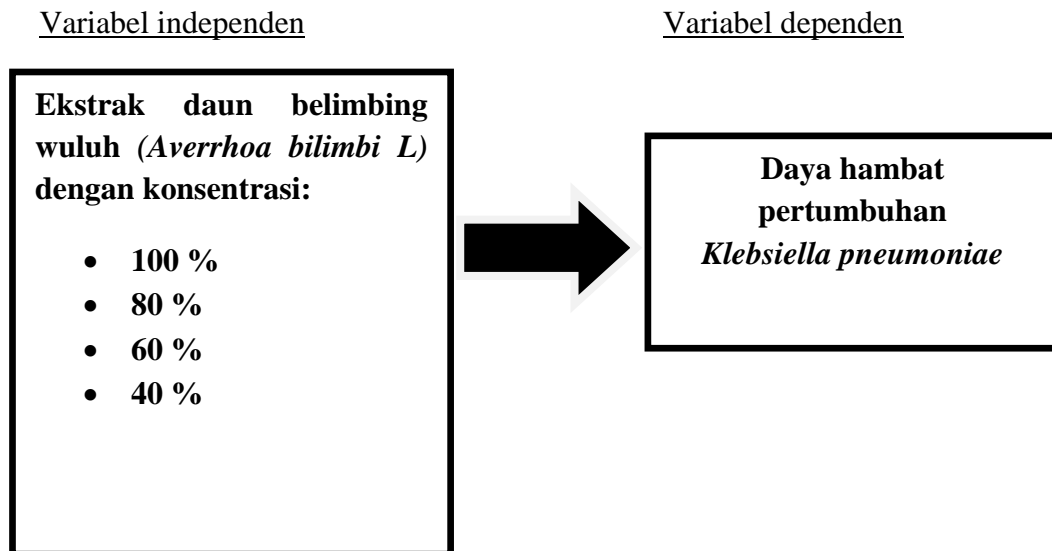
Metode ini dilakukan dengan cara menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan diatas labu dan dibawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan kedalam labu dan suhu pemanas diatur dibawah suhu reflux. Keuntungan metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinue, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan waktu banyak. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus menerus berada pada titik didih.²⁷

2.7 Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

BAB 3
METODE PENELITIAN

3.1 Defenisi Operasional

Tabel 3.1 Variabel Operasional

Variabel	Defenisi	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala ukur
Variabel independen: Ekstrak daun belimbing wuluh	Ekstrak kental dari daun belimbing wuluh yang diperoleh melalui proses maserasi. Berbagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh didapatkan dengan proses maserasi dengan menggunakan etanol 96% serta dinyatakan dalam persen (%). Masing-masing konsentrasi dibuat dengan	Membuat ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>) dengan cara melakukan perhitungan untuk mengatur konsentrasi yang dibutuhkan. Rumus : $V_1M_1=V_2M_2$	Didapatkan ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L</i>) dengan konsentrasi : <ul style="list-style-type: none"> • 100% • 80% • 60% • 40% 	Ordinal

cara pengenceran dan dibentuk sediaan cair. Pada penelitian ini dipakai konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%.

Variabel dependen:	Daya hambat dari bakteri <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Menghitung diameter zona jernih pada media pertumbuhan bakteri	Diameter zona jernih pada media pertumbuhan bakteri	Numerik
Daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Klebsiella Pneumoniae</i>	adalah diameter zona jernih yang terlihat di sekitar pada media pertumbuhan bakteri	adalah diameter zona jernih yang terlihat di sekitar bakteri dengan menggunakan jangka sorong		

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan penelitian menggunakan enam kelompok sebagai objek di antaranya kelompok perlakuan yaitu ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100% dan kelompok kontrol yaitu cefotaxime sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan dilakukan pengukuran setelah hasil pengukuran tersebut kemudian dibandingkan dengan hasil kelompok kontrol.

3.3 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – September 2018 dalam rentang waktu penelitian selama 30 hari dan lokasi penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, dan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan Universitas Sumatera Utara.

Tabel 3.2 Tabel pelaksanaan penelitian

No	Kegiatan	Bulan							
		April 2018	Mei 2018	Juni 2018	Juli 2018	Agustus 2018	September 2018	November 2018	
1	Persiapan Proposal								
2	Sidang seminar Proposal								
3	Penelitian								
4	Analisis data dan evaluasi								
5	Sidang seminar Hasil								

3.4 Jumlah Pengulangan

Jumlah sampel penelitian adalah 24 plate terdiri dari 6 kelompok perlakuan yang dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kelompok perlakuan yaitu 4 konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) yaitu konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%, kelompok kontrol positif (cefotaxime)

dan kontrol negatif (aquades). Untuk pengulangan sampel rumus yang digunakan adalah rumus Federer.

Rumus Federer : $(n-1) (t-1) \geq 15$

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (6-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5) \geq 15$$

$$(5n-5) \geq 15$$

$$(5n) \geq 20$$

$$n \geq 4$$

keterangan:

n : besar sampel

t : jumlah kelompok

Jumlah sampel minimal 4 pada tiap kelompok dan penelitian ini menggunakan 4 kali pengulangan. Maka total sampel pada penelitian adalah 24 sampel.

Kelompok 1 : Cefotaxime sebagai kontrol positif = 4 sampel

Kelompok 2 : Aquadest sebagai kontrol negatif = 4 sampel

Kelompok 3 : Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) konsentrasi 40% = 4 sampel

Kelompok 4 : Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) konsentrasi 60% = 4 sampel

Kelompok 5 : Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) konsentrasi 80% = 4 sampel

Kelompok 6 : Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) konsentrasi 100% = 4 sampel

3.5 Teknik pengumpulan data

Teknik pengumpulan data berdasarkan hasil ukur diameter zona hambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dengan menggunakan jangka sorong. Data yang diambil adalah data primer.

Tabel 3.3 Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat.²⁷

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
> 20 mm	Sangat Kuat
11-20 mm	Kuat
6-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

3.5.1 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan adalah:

- a. Autoklaf
- b. Cawan petri
- c. Gelas ukur
- d. Beker glass
- e. Labu Erlenmeyer
- f. Jangka sorong
- g. Watertbath
- h. Kain flanel
- i. Spritus
- j. Ose/ lidi pengaduk
- k. Pipet tetes mikro
- l. Timbangan analitik
- m. Kaca arloji

- n. Magnetic stirrer
- o. Labu ukur
- p. Kertas *Whatman*
- q. Inkubator
- r. Spatula
- s. Kertas saring
- t. Oven
- u. Cotton swab
- v. Pinset steril
- w. Laminar flow

Bahan yang digunakan adalah :

- a. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%.
- b. Koloni Bakteri *Klebsiella pneumoniae*
- c. Larutan fisiologis NaCl 0,9%
- d. Aquadest
- e. Cefotaxime
- f. *Muller Hinton Agar* (MHA)

3.5.2 Cara kerja

3.5.2.1 Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Secara mikroskopis, identifikasi *Klebsiella pneumoniae* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dengan cara mengambil biakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan diletakkan diatas objek glass dengan menggunakan ose steril yang telah dipijarkan dengan api bunsen dan ditunggu hingga dingin. Genangi sediaan dengan larutan gentian violet dan biarkan selama 5 menit, kemudian bersihkan

preparat dengan aquadest mengalir dan dikeringkan. Lalu diberi larutan lugol selama 1 menit kemudian dicuci dengan aquadest mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya diberikan alkohol 70% selama 30 detik kemudian dicuci dengan aquadest mengalir dan dikeringkan, kemudian basahi dengan larutan safranin dan diamkan selama 20 detik. Selanjutnya bilas dengan aquadest mengalir lalu keringkan dan diberikan minyak imersi diatas kaca preparat bakteri dan amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x-100x.

3.5.2.2 Identifikasi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)

Cara mengidentifikasi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) adalah dilakukan dengan mengirim daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) ke Herbarium Medane (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Setelah itu peneliti mendapatkan bukti kebenaran bahwa badan tersebut adalah daun belimbing wuluh dalam bentuk data.

3.5.2.3 Cara pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) diperoleh di halaman rumah di Jl. Hocky no.8 Medan, kemudian daun tersebut dibuat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) adalah metode maserasi. Di dalam metode maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak 96%. Sebanyak 50 gr daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dikumpulkan terlebih dahulu lalu dibersihkan dengan air mengalir dan kemudian dipotong tipis-tipis. Dikeringkan hingga benar-benar kering di udara terbuka dan kemudian dihaluskan (simplisia). Serbuk kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2 liter dalam bejana tertutup rapat selama 3 hari sambil sesekali diaduk atau digoyangkan. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan saringan untuk memisahkan filtrat dari ampas.

Ampas daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dimaserasi kembali dan diulang sebanyak 3 kali dengan 2 liter etanol 96% agar dapat dipastikan zat aktif daun belimbing wuluh terekstraksi secara sempurna. Hasil yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Filtrat dipisahkan dengan menguapkan pada suhu

50°C menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental yang bebas dari pelarut. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan.

Penelitian ini menggunakan sampel ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) perlu dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian yaitu :

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 3 mL sampel diuapkan, dicuci, dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 mL etanol kemudian disaring. Filtrat dibagi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambahkan larutan H₂SO₄ pekat kemudian dipanaskan pada penangas air. Jika terjadi perubahan warna hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya flavonoid. Filtrat C ditambahkan larutan NaOH 10%. Jika terjadi warna biru-ungu menunjukkan adanya flavonoid.²⁹

2. Uji Tanin

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan dengan 5 ml aquadest kemudian dipanaskan pada suhu 50 °C selama 5 menit. Larutan kemudian disaring dan filtratnya ditambahkan 5 tetes FeCl₃ 1%. Adanya warna biru tua atau hijau kehitaman yang terjadi menunjukkan adanya tanin.²⁹

3. Uji terpenoid

Sebanyak 5 mL sampel dimasukkan dalam gelas kimia, kemudian ditambah 2 mL kloroform dan diaduk. Selanjutnya ditambahkan pereaksi Salkowsky (H₂SO₄ pekat). Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya steroid/terpenoid.²⁹

4. Saponin

Sebanyak 3 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 mL menunjukkan adanya saponin.²⁹

3.5.2.4 Pengenceran ekstrak

Pengenceran ekstrak dalam penelitian ini menggunakan DMSO dan selanjutnya dibagi dalam 4 konsentrasi yaitu 40%, 60%, 80% dan 100%.

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

Keterangan :

V_1 : Volume larutan yang akan diencerkan (mL)

M_1 : Konsentarsi ekstrak daun belimbing wuluh yang tersedia (%)

V_2 : Volome larutan yang diinginkan (mL)

M_2 : Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang dibuat (%)

Tabel 3.4 Volume Ekstrak Daun Belimbing Wuluh yang dibutuhkan pada penelitian

M_1	V_2	M_2	V_1	$V_1 \times 4$
100%	1ml	40%	400 μ l	16000 μ l
100%	1 ml	60%	600 μ l	32000 μ l
100%	1 ml	80%	800 μ l	80000 μ l
100%	1 ml	100%	1000 μ l	100000 μ l
Total				228000 μ l

Tabel 3.5 Volume kontrol yang dibutuhkan pada penelitian

Kelompok	Volume selalu uji	Total volume = V X 4
Kontrol negatif (Aquadest)	1 ml	4 ml
Kontrol positif (Cefotaxime)	1 ml	4 ml

3.5.2.5 Uji daya hambat (difusi)

Pada penelitian ini digunakan uji daya hambat dengan menggunakan metode difusi atau *dith-plate technique*. Menyiapkan kertas cakram berdiameter 6,28 mm yang dibuat dari kertas *Whatman*. Tiap-tiap cakram sebelumnya dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C selama 15 menit agar steril, selanjutnya kertas cakram kosong yang steril dimasukkan kedalam masing-masing konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 40%, 60%, 80% dan 100% selama 15 menit agar ekstrak dapat terserap kedalam cakram dengan baik. Buat suspensi koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* kemudian, dimasukkan kedalam medium cair dalam tabung reaksi, kemudian didiamkan selama 2-3 jam pada suhu 37°C dan disesuaikan kekeruhan bakteri pada tabung reaksi dengan kekeruhan *Mc Farland*. Dengan menggunakan cotton swab steril dan mencelupkan ke dalam media cair yang berisi bakteri, kemudian diusapkan ke permukaan *Muller Hinton Agar*.^{36,37}

Sebarkan secara merata pada permukaan agar, selanjutnya didiamkan 3-5 menit. Meletakkan kertas cakram ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100%, antibiotik cefotaxime dan aquadest pada permukaan agar yang sudah disebarkan koloni *Klebsiella pneumoniae* dengan menggunakan pinset steril dan menekan sedikit agar melekat dengan baik, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya ukur diameter zona hambat disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter.³⁷

3.6 Pengolahan data

Adapun langkah-langkah pengolahan data meliputi :

a. Pemeriksaan data (*Editing*)

Pemeriksaan data (*Editing*) dilakukan untuk memeriksa ketepatan dan kelengkapan data yang telah dikumpulkan apabila data belum lengkap ataupun ada kesalahan data.

b. Pemberian kode (*Coding*)

Pemberian kode (*Coding*) data dilakukan apabila data terkumpul kemudian dikoreksi ketepatan dan kelengkapannya. Selanjutnya data diberikan kode oleh peneliti secara manual sebelum diolah ke dalam komputer.

c. Memasukan data (*Entry*)

Data yang telah dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam program komputer.

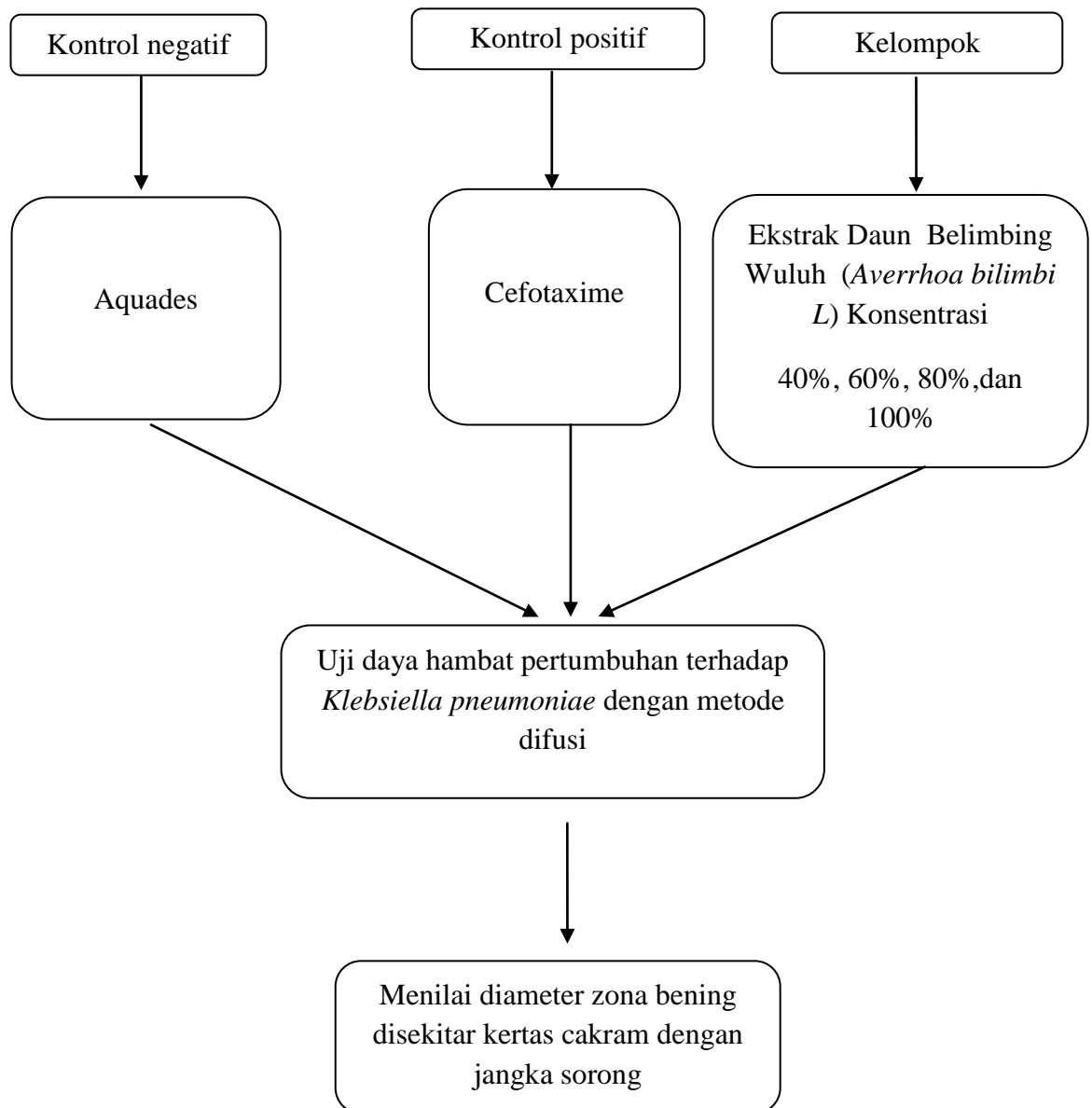
d. Pembersihan data (*Cleaning*)

Pemeriksaan semua data yang telah dimasukkan ke dalam komputer guna menghindari terjadinya kesalahan dalam pemasukan data.

e. Menyimpan data (*Saving*)

Menyimpan data untuk dianalisis.

3.7 Alur penelitian



Gambar 3.1 Alur penelitian

3.8 Analisis data

Jika data yang diperoleh dari hasil penelitian memiliki efektivitas selanjutnya ditabulasi dan dikelompokkan berdasarkan diameter daya hambat pada media agar masing-masing bahan uji.

a. Uji Normalitas

Data yang didapatkan dari uji normalitas akan dimasukkan ke dalam program SPSS untuk di uji normalitas data. Jika data yang ditemukan normal, maka dapat dilakukan uji *One Way Annova*. Jika ternyata data tidak normal, maka selanjutnya dilakukan transformasi data.

b. Uji Variant data

Data yang telah didapatkan dari uji normalitas akan dimasukkan ke dalam program SPSS untuk di uji homogenitas varians data. Jika data yang ditemukan bervarians normal, maka selanjutnya dapat dilakukan uji *One Way Annova*.

c. Uji *One Way Annova*

Uji ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan dalam setiap konsentrasi ekstrak. Syarat agar dapat dilakukan pengujian ini adalah data terdistribusi normal atau data-data terdistribusi normal setelah dilakukan transformasi data dan bervarians normal. Jika ternyata data tidak normal, maka selanjutnya dilakukan uji *Kruskal Wallis*.

d. Uji *Kruskal Wallis*

Uji ini dilakukan jika data yang ditemukan tidak normal baik berdistribusi atau varians nya. Uji ini bertujuan untuk membandingkan mean lebih dari 2 kelompok.

e. Uji *Mann Whitney*

Uji ini dilakukan untuk mengetahui mean antara 2 kelompok (merupakan post-hoc dari Uji *Kruskal Wallis*).

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September-November 2018 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatra Utara berdasarkan persetujuan Komisi Etik dengan Nomor **205/KEPK/FKUMSU 2019**. Peneliti memperoleh sampel penelitian dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatra Utara. Penelitian ini dilakukan dengan 4 kali pengulangan selama 1 minggu. Responden telah menandatangani informed consent dan semua protokol yang telah disetujui oleh komisi etik.

4.1.1 Skrining Fitokimia Bahan Alam

Tabel 4.1 Hasil skrining fitokimia senyawa bahan alam daun belimbing wuluh

Skrining Fitokimia	Hasil
Flavonoid	Positif
Alkaloid	Negatif
Steroida/Terpenoida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Dari hasil uji skrining fitokimia senyawa bahan alam yang terdapat dalam ekstrak daun belimbing wuluh yang dipakai didapati senyawa flavonoid, terpenoida, tanin, saponin yang menyebabkan tidak tumbuh atau terhambatnya pertumbuhan dari bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

4.1.2 Hasil Pengukuran Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran daya hambat bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Pengulangan	Diameter daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> (dalam satuan mm)					
	Ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L) dengan konsentrasi				Kontrol +	Kontrol -
	40%	60%	80%	100%		
	Pengulangan 1	0	0	0	0	0
Pengulangan 2	0	0	0	0	0	0
Pengulangan 3	0	0	0	0	0	0
Pengulangan 4	0	0	0	0	0	0

Pada tabel 4.2 didapati hasil bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, kontrol positif dan kontrol negatif menunjukkan tidak ada zona bening yang dihasilkan.

4.2 Pembahasan Penelitian

Dari hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro diperoleh tidak adanya efektivitas antibakteri dengan masing-masing konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100%. Pada penelitian ini bahwa ekstrak daun belimbing wuluh tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Dari hasil literatur yang didapat *Klebsiella pneumoniae* dapat menghasilkan enzim β -Lactamase sehingga dapat menghidrolisis cincin betalaktam yang terdapat pada antibiotik betalaktam dan menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut. Selain itu, *Klebsiella pneumoniae* juga memiliki enzim urease dan enzim sitrat permiase serta enzim ESBL (*Extended Spectrum Beta Laktamase*) sehingga menyebabkan resistensi terhadap antibiotik penisilin,

sefalosporin, dan aztreonam. Kapsul polisakarida yang mengelilingi bakteri ini melindungi terhadap aksi fagositosis dan bakterisidal serum dan dapat dianggap sebagai faktor virulensi terpenting dari *Klebsiella pneumoniae*.³⁹

Jenis enzim ESBL, TEM β -Lactamase isolat *Klebsiella pneumoniae* yang terdeteksi di Prancis pada awal 1984 ditemukan mengandung β -Lactamase baru yang dimediasi plasmid. Beberapa mutan TEM betalaktamase mempertahankan kemampuan untuk menghidrolisis sefalosporin generasi ketiga tetapi juga menunjukkan resistensi terhadap inhibitor β -Lactamase yang disebut sebagai mutan TEM kompleks (CMT-1 sampai 4). Enzim ESBL tipe TEM paling sering ditemukan pada *E.coli* dan *Klebsiella pneumoniae*.^{38,39}

Klebsiella pneumoniae juga menjadi lebih patogen karena kemampuannya membentuk biofilm, yaitu suatu komunitas bakteri dan produk bakteri berupa eksopolisakarida. Bakteri yang membentuk biofilm memiliki pengaruh terhadap gagalannya terapi antibiotik karena antibiotik hanya mengeliminasi bakteri dalam bentuk planktonik saja sedangkan bakteri dalam bentuk biofilm akan tetap hidup dan terus melepaskan bakteri planktonik sehingga menjadi infeksi yang berulang.^{34,35}

Beberapa mekanisme yang menyebabkan gagalannya terapi antibiotik antara lain karena pertama, gagalannya antibiotik untuk menembus lapisan biofilm. Kedua, bakteri dalam bentuk biofilm memiliki nutrisi yang sangat terbatas dan tumbuh sangat lambat, bakteri yang berada dalam kondisi seperti ini biasanya tidak terlalu sensitif terhadap antibiotik. Ketiga, biofilm memberikan lingkungan dengan kondisi perlindungan yang lebih terhadap bakteri didalamnya. Selain itu bakteri dalam komunitas biofilm dapat terlindung dari sistem imun tubuh seperti fagositosis.³⁴

Namun dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Sutriningsih pada tahun 2018 yang menyatakan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dengan konsentrasi 35%, 50% dan 65% mempunyai efek antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian

dilakukan dengan metode difusi dengan cara daun belimbing wuluh ditimbang sebanyak 100 mg serbuk yang dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 hari. Zona hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh 35% b/v sebesar 7,6 mm, 50% b/v sebesar 8,5 mm, dan 65% b/v sebesar 10,2 mm.³²

Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan Estri Noviana, menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin baik efek yang dihasilkan. 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.³³

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang lakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100% tidak memiliki efektivitas antibiotik terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*, begitu pula dengan kontrol positif antibiotik cefotaxime maupun kontrol negatif tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Kemungkinan cefotaxime yang digunakan sebagai kontrol positif sudah resisten terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

5.2 Saran

Setelah dilakukan penelitian tentang uji efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro, maka penelitian memberikan beberapa saran sebagai berikut:

1. Penelitian perlu dilanjutkan dengan membandingkan daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) pada bakteri gram positif lain seperti (*Streptococcus, Bacillus, Clostridium*) dan negatif lain seperti (*E.Coli, Salmonella, Shigella, Pseudomonas aeruginosa*). Dan sebaiknya sebelum dilakukan penelitian, dilakukan dahulu uji sensitifitas terhadap antibiotik yang digunakan untuk kontrol positif dalam penelitian.
2. Penelitian dapat dilanjutkan dengan menggunakan hewan coba untuk melihat manfaat lain pada daun belimbing wuluh, buah belimbing wuluh, dan bunga belimbing wuluh.

DAFTAR PUSTAKA

1. Entjang, Indah. Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan. 182.Bandung : Citra Aditya Putra. 2003.
2. Anonima. *Pneumonia*. www.infeksi.com. Diakses tanggal 22 November 2010.
3. Dipro, J.T., Wells, B.G., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Posey, L.M., Pharmacotherapy, 6th Edition, Appleton and Lange, New York 2005: 12-13.
4. Rashif MZ. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Lingkungan Rumah Sakit Margono Soekarjo Purwokerto. 2017;5(2).
5. RI M. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. *Peratur Menteri Kesehatan NO 72 TAHUN 2016*. 2016:4.
6. Cahyaningsih I, Wiedyaningsih C, Kristina SA. Effect of Education on the Level of Community Knowledge about Analgesic in Cangkringan, Sleman Regency , Yogyakarta. *Mutiara Med*. 2013;13(2):98-104.
7. Peraturan Menteri Kesehatan No. 007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional. 2012.
8. Ayu P, Devi C, Zubaidah E, Sriherfyna FH. Karakteristik Fisik-kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Physical-Chemistry Characteristics and Antibacterial Activity of Bilimbi (*Averrhoa bilimbi L*) Leaves Extract. 2016;4(1):400-409.
9. Fahrunnida, Pratiwi R. Kandungan Saponin Buah , Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). *Pendidik Biol Pendidik Geogr Pendidik Sains, PKLH – FKIP UNS*. 2009:220-224.
<http://jurnal.fkip.uns.ac.id/index.php/kpsda/article/view/5378/3794>.
10. Pertanian F, Yogyakarta UM. Kajian Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L*) Sebagai Antibakteri Pada Edible Coating Untuk Memperpanjang Umur Simpan Buah Tomat. 2016.
11. Muzaiifa M. Identifikasi Bakteri Asam Laktat Indigenus Dari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). *J Sagu*. 2014;13(1):8-13.

- <http://ejournal.unri.ac.id/index.php/JSG/article/view/2130>.
12. Liantari DS. *Effect Of Wuluh Starfruit Leaf Extract For Streptococcus Mutans Growth. J Major*. 2014;3(7):27-33.
<http://joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/473/474>.
 13. Dalimartha S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda; 2008.
 14. St. Maryam, Saidah juniasti RK. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Asal Kota Watampone. 2015;7(1):60-69. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2
 15. Mahardika CN. Jurnal Riset Kesehatan Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus Aureus*. 2017;6(2):62-65.
 16. Alderberg's M, Jawetz. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika; 2001.
 17. Syarurachman A, Chatim A, Soebandrio A, Karuniawati A, Harun H. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara; 1993.
 18. Michelow I, Olsen K, Lozano J, Rollins N, Duffy L, Ziegler T. Epidemiology and Clinical Characteristics of community-acquired pneumonia in hospitalized children Pediatrics. 2004/04/03:701-7.
 19. GF B, Butel J, Morse S, Jawetz E, Melnick J, Adelberg EA J. *Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. Jakarta: Salemba Medika; 2005.
 20. Grayson ML,. *Kucers' The Use of Antibiotics* 6th ed., London: Edward Arnold Ltd. 2010.
 21. Chen, Y., Zheng R., Jia Z., dan Ju Y. "Flavonoids as Superoxide Scavengers and Antioxidants." Dalam: *Free Radical Biology and Medicine*. 1990: 19-21.
 22. Diplock, A.T. "Antioxidant Nutrients and Disease Prevention: an Overview." dalam: *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1990: 314-321.
 23. Ries, K. Et al. Clinical and in vitro evaluation of cefotaxime, a new cephalosporin antibiotic, Antimicrob. Ag. Chemother. 2016, 3:168-174.
 24. Katzung B. *Basic and Clinical Pharmacology* 10th ed., San Francisco: The

- McGraw-Hill Companies, Inc. 2007.
25. Thrupp, L.D. Newer cephalosporins and “expanded-spectrum” penicilins, *Ann, Rev, Pharmacol*, 2015: 435-467.
 26. Wijo Kongko Kartika Yudha Sujadmiko dan Prima Retno Wikandari. Resistensi Antibiotik Amoksisilin Pada Strain *Lactobacillus Plantarum* B1765 Sebagai Kandidat Kultur Probiotik. 2017;6(1).
 27. Sayuti K, Yenrina R. *Antioksidan Alami Dan Sintetik.*; 2015.
 28. Pratiwi S. *Mikrobiologi farmasi.Edisi 5*. Jakarta: EGC; 2008.
 29. Rosyidah K, Nurmuhaimina SA, Komari N. Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera casturi*). *Alchemy*. 2010;1(2):65-69.<http://ejournal.uin-malang.ac.id/index.php/Kimia/article/view/1674>
 30. Agustina S, Wiraningtyas A, Bima K. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem*. 2016;4(1):71-76.
 31. Lathifah Q,A. Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Dengan Variasi Pelarut. 2012 [cited on 13 January 2018]
 32. Sutriningsih. Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. 2018.
 33. Noviana E. Uji Potensi Ekstrak Daun Suren (*Toona sureni*) sebagai insektisida ulat grayak pada tanaman kedelai. Surakarta : Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. 2011.
 34. Bandeira, B.; Borges, V.; Gomes, J.P.; Duarte, A.; Jordao, L.Insights on *Klebsiella pneumoniae* biofilms assembled on different surfaces using phenotypic and genotypic approaches. *Mikroorganism* 2017, 5, 16. [CrossRef] [PubMed]
 35. Vuotto, C.; Longo, F.; Balice, M.P.; Donelli, G.; Varaldo, P.E. Antibiotic resistance related to biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* . *Pathogens* 2014, 3-743-758. [CrossRef] [PubMed]

36. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing. Approved standard M100-S11. Wayne, Pa:NCCLS. 2001.
37. Cockeril, F.R, Matthew AW, Jeff A, Michael ND, George ME, Mary JF, et al. Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard Eleventh Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA:Clinical and Laboratory Standard Institute. 1-4;2012.
38. Yagi, T., Wachino, J. & Kurokawa, H. Practical methods using boronic acid compounds for identification of class C β -lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol*, 2005. 43, pp.2551-8.
39. Tsakris, A. Use of boronic acid disk tests to detect *extended spectrum* β -lactamase in clinical isolates of KPC carbapenemase-possessing Enterobacteriaceae. *J Clin Mikrobiol*, 2009. 47, pp.3420-6.

Lampiran 1 : Dokumentasi

Dokumentasi pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)



Proses penjemuran daun



Penimbangan daun



Proses pengekstrakan daun belimbing wuluh



Perendaman daun yang sudah kering menggunakan etanol 96%



Ekstrak daun belimbing wuluh

Dokumentasi uji efektivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*



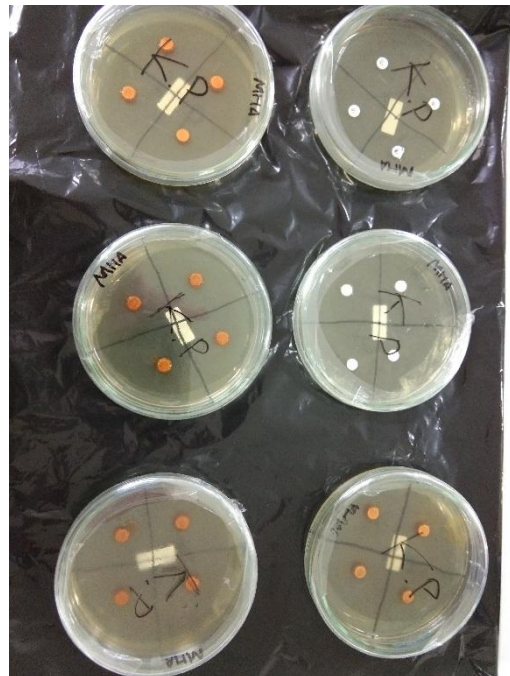
Uji bakteri



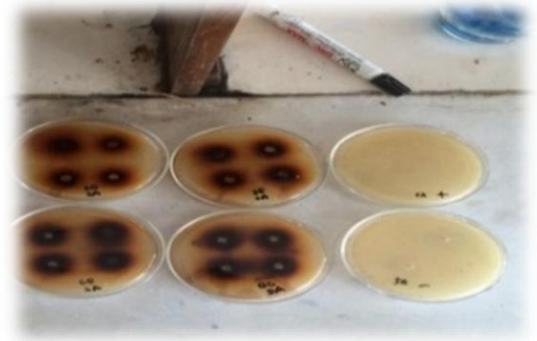
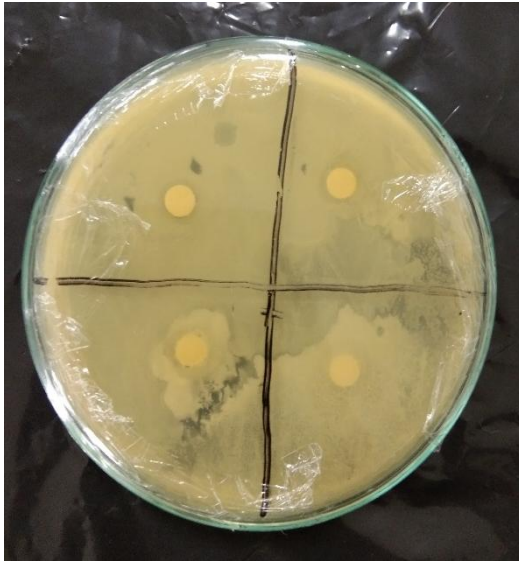
Uji ekstrak



Perendaman ekstrak selama 15 menit




Bakteri sebelum di inkubasi



Hasil daya hambat

Lampiran 2 : Etik Penelitian



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 205/KEPK/FKUMSU 2019

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Firsty Dwi Hidayati Sirait
Principal In Investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution Faculty of Medicine University of Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan Judul
Title

"UJI EFEKTIFITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (AVVERHOA BILIMBI L) TERHADAP BAKTERI KLEIBSIELLA PNEUMONIAE SECARA IN VITRO"


"ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS TEST LEAVES OF CUCUMBER TREE EXTRACT (AVERRHOA BILIMBI L) ON THE GROWTH OF KLEIBSIELLA PNEUMONIAE BACTERIA IN VITRO"


Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assesment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 04 Januari 2019 sampai dengan tanggal 04 Januari 2020

The declaration of ethics applies during the periode January 04, 2019 until January 04, 2020

Medan, 04 Januari 2019
Ketua

Dr. dr. Nurfadly, MKT



Lampiran 3 : Identifikasi Tumbuhan



HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
Jl. Binteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155
Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail. nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 05 September 2018

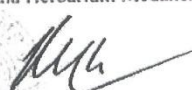
No : 1675/MEDA/2017
Lamp : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH ,
Sdr/i : Firsty Dwi Hidayati Sirait
NPM : 1508260036
Instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat ,
Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Geraniales
Family : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa bilimbi L.*
Nama Lokal : Daun belimbing wuluh

Demikian, semoga berguna bagi saudara

Kepala Herbarium Medanense.

Dr. Nursahara Pasaribu, M.Sc
NIP: 1963 01 23 1990 03 2001

Lampiran 4 : Skrining Fitokimia



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS SUMATERA UTARA
 FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
 DEPARTEMEN KIMIA
 LABORATORIUM KIMIA BAHAN ALAM
 Jl. Bioteknologi No. 1 Kampus USU, Medan 2015
 Telp.061-8211050 Fax.061-821490

Medan, 14 September 2018

SURAT KETERANGAN

Dengan ini Kepala Laboratorium Kimia Bahan Alam FMIPA USU menerangkan bahwa sampel yang diserahkan kepada mahasiswa :

FIRSTY DWI HIDAYATI SIRAIT

Dengan hasil uji Skrining sebagai berikut :

SAMPEL : DAUN BELIMBING WULUH	
Flavonoida	Positif
Alkaloida	Negatif
Steroida/ Terpenoida	Positif
Tanin	Positif
Saponin	Positif

Demikianlah surat ini diperbuat untuk dipergunakan seperlunya.

Kepala Laboratorium

Dr. Helmina Sembiring S.Si, M.Si
 NIP. 197602022000122002