

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh :

DHIFO INDRATAMA

1508260038

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

MEDAN

2019

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 SECARA IN VITRO**

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



Oleh :

DHIFO INDRATAMA

1508260038

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

HALAMAN PERNYATAAN 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 : DHIFO INDRATAMA
NPM : 1508260038
Judul skripsi : Uji Efektivitas Ekstrak Antibakteri Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Secara In Vitro.

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

Medan, 25 Januari 2019



(Dhifo Indratama)



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

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu.ac.id

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Dhifo Indratama
NPM : 1508260038
Judul : Uji Efektivitas Antibakteri Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*)
Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Stphylococcus aureus* ATCC 25923
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)

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. Gusbakti Rusip, M.Sc., PKK, AIFM)
NIP/NIDN : 1957031719900311002/0109048203

Ditetapkan di : Medan

Tanggal : 25 Januari 2019

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter
FK UMSU

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

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullahiwabarokatuh

Puji syukur kehadiran 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 Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 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. Prof. Dr. Gusbakti Rusip, M.Sc., PKK.,AIFM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. dr. Yenita, M.Biomed selaku dosen pembimbing, yang telah mengarahkan dan memberikan bimbingan, terutama selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.
3. dr. Ance Roslina, M.Kes yang telah bersedia menjadi dosen penguji satu dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
4. dr. Ilham Hariaji, M.Biomed yang telah bersedia menjadi dosen penguji dua dan memberi banyak masukan untuk penyelesaian skripsi ini.
5. 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.
6. Ayahanda Drs.H. Hendra dan Ibunda Dra.Hj. Hendri Syofia , SE yang telah memberikan bantuan dukungan material dan moral.

7. Adikku Marisha Syofia Indra yang turut memberikan semangat pada saat pengerjaan skripsi dan seluruh keluarga besar yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
8. Sejawat satu kelompok bimbingan Firsty Dwi Hidayati Sirait yang telah saling membantu dan memberikan dukungan.
9. Kerabat-kerabat penulis Atikah Hanum, Muhammad Al Anas, Abdul Wahab Dalimunthe, Andre Fadillah, Firdaus Rosa, Raden Febrian Dwi Cahyo, Abdul Razak, Rahu Alphama, Khairido Rezeki Sembiring, Taufiq, Pandu Fahreza, Wahyuda Alfadil 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, 25 Januari 2019

Penulis

Dhifo Indratama

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA TULIS ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara,

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dhifo Indratama

NPM : 1508260038

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 Ekstrak Antibakteri Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 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 : 25 Januari 2019

Yang menyatakan,

(Dhifo Indratama)

ABSTRAK

Latar belakang : Penyakit infeksi merupakan penyakit terbanyak di Indonesia. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri *Staphylococcus aureus*. 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 *Staphylococcus aureus* 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%, amoksisilin dan aquabidest menghasilkan zona bening yang berbeda-beda dan yang paling efektif adalah konsentrasi 100% **Kesimpulan :** Ekstrak daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

Background : Infection is the most common disease in Indonesia. Infection diseases are caused by microorganisms such as the *Staphylococcus aureus*. 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 *Staphylococcus aureus* 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. **Result** : Leaves of Cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L.) at concentrations of 40%, 60%, 80%, 100%, amoksisilin, and aquabidest resulted in average diameter of clear zone and the most effective is 100% concentration **Conclusion** : leaves of Cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L.) have an inhibitory power against *Staphylococcus aureus*.

Key word : Leaves of Cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L.), *Staphylococcus aureus*.

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah	3
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	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>)	5
2.1.1 Taksonomi Tanaman Belimbing Wuluh	5
2.1.2 Morfologi belimbing wuluh	5
2.1.3 Kandungan kimia tanaman belimbing wuluh.....	7
2.1.4 Manfaat tanaman belimbing wuluh	8
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.2.1 Taksonomi <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.2.2 Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.2.3 Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.3 Antibiotik.....	11
2.3.1 Amoksisilin	11

2.3.2 Mekanisme Kerja Amoksisilin	12
2.4 Antioksidasi	12
2.5 Uji Kepekaan Antibiotik.....	13
2.5.1 Metode Dilusi	13
2.5.1.1 Metode dilusi cair (broth dilution test)	13
2.5.1.2 Metode dilusi padat (solit dilution test).....	14
2.5.2 Metode Difusi	14
2.5.2.1 Metode Difusi.....	14
2.5.2.2 <i>E-test</i>	14
2.5.2.3 Ditch-plate technique	15
2.5.2.4 Cup-plate technique	15
2.5.2.5 Gradient-plate technique	15
2.6 Metode Ekstrak	15
1. Maserasi.....	16
2. <i>Ultrasound-Assisted Solvent Extraction</i>	16
3. Perlokasi	17
4. Soxlet	17
2.7 Kerangka Teori.....	18
2.8 Kerangka Konsep.....	19
BAB 3 METODE PENELITIAN	20
3.1 Defenisi Operasional	20
3.2 Jenis Penelitian.....	21
3.3 Waktu dan tempat penelitian.....	21
3.4 Jumlah Pengulangan	22
3.5. Teknik pengumpulan data	23
3.5.1 Alat dan bahan penelitian	24
3.5.2 Cara kerja.....	25
3.5.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
3.5.2.2 Identifikasi daun belimbing wuluh.....	25
3.5.2.3 Cara pembuatan Ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>).....	25
3.5.2.4 Pengenceran ekstrak.....	27
3.5.2.5 Uji daya hambat (difusi).....	28
3.6 Pengolahan data.....	29
3.7 Alur penelitian	31
3.8 Analisis data	32

BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Skrining Fitokimia Bahan alam.....	34
4.2 Hasil pengukuran daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan hasil uji efektivitas daun belimbing wuluh terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	35
4.2.1 Uji Normalitas Shapiro-Wilk dan Uji Homogenitas	36
4.2.2 Uji Kruskal-Wallis	36
4.2.3 Uji Mann-Whitney	39
4.3 Pembahasan Penelitian.....	45
 BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	 47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
 DAFTAR PUSTAKA	 49
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Variabel operasional	<u>20</u>
Tabel 3.2 Tabel pelaksanaan penelitian	<u>22</u>
Tabel 3.3 Diameter zona hambat antibakteri	<u>24</u>
Tabel 3.4 Volume ekstrak daun belimbing wuluh.....	<u>28</u>
Tabel 3.5 Volume Kontrol	28
Tabel 4.1 Skrining fitokimia bahan alam.....	<u>34</u>
Tabel 4.2 Hasil pengukuran daya hambat	<u>35</u>
Tabel 4.3 Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji Homogen	<u>36</u>
Tabel 4.4 Hasil uji Kruskal-wallis dengan rata-rata dan standart deviasi.....	<u>36</u>
Tabel 4.5 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> amoksisilin dengan aquabidest	<u>39</u>
Tabel 4.6 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40 %	<u>39</u>
Tabel 4.7 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60% %	<u>39</u>
Tabel 4.8 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%	<u>40</u>
Tabel 4.9 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i> Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%	<u>40</u>
Tabel 4.10 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40%	<u>41</u>
Tabel 4.11 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%	41

Tabel 4.12 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%	<u>41</u>
Tabel 4.13 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%	<u>42</u>
Tabel 4.14 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%	<u>42</u>
Tabel 4.15 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%	<u>43</u>
Tabel 4.16 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%	<u>43</u>
Tabel 4.17 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 60% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%	<u>43</u>
Tabel 4.18 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 60% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%	<u>44</u>
Tabel 4.19 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 80% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%	<u>44</u>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	<u>7</u>
Gambar 2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	<u>10</u>
Gambar 2.3 Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i>	<u>11</u>
Gambar 2.7 Kerangka teori	<u>18</u>
Gambar 2.6 Kerangka konsep	<u>19</u>
Gambar 3.1 Alur penelitian.....	<u>31</u>
Gambar 4.1 Grafik rata-rata zona hambat.....	<u>38</u>

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: <i>Analysis of Variant</i>
CHP	: <i>Chemotaxis Inhibitor Protein</i>
NCCLS	: <i>National Community for Clinical Laboratory Standard</i>
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
EAP	: <i>Extracelullar Adherence Protein</i>
ICAM-I	: <i>Intracellular Cell Adherence Molecule-I</i>
KBM	: Kadar BunuhMinimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
MBC	: <i>Minimum Bactericidal Concentration</i>
MDR	: <i>Multi Drug Resistance</i>
MEDA	: <i>HERBARIUM MEDANENSE</i>
MIC	: <i>Minimum Inhibitor Concentration</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji Normalitas.....	52
Lampiran 2 Uji Homogenitas	55
Lampiran 3 Uji Mann-Whitney.....	56
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	64
Lampiran 5 Etik Penelitian	66
Lampiran 6 Identifikasi Bahan	67
Lampiran 7 Skrining Fitokimia	68
Lampiran 8 Daftar Riwayat Hidup.....	69

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit terbanyak di Indonesia. Penyakit infeksi dapat menular dari satu orang ke orang yang lain atau dari hewan ke manusia yang disebabkan beberapa mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur.¹

Mikroba yang menyebabkan infeksi salah satunya bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini umumnya ada di udara, debu, limbah, tumbuh pada makanan dan menghasilkan enterotoksin tetapi tidak mempengaruhi bentuk luar makanan tersebut. Gejala yang sering ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya demam, mual, muntah, diare dan ruam pada kulit.²

Penyakit infeksi merupakan penyakit penyebab kematian pada anak-anak maupun dewasa dengan lebih dari 13 juta jiwa setiap tahunnya, WHO melaporkan bahwa penyakit infeksi menempati urutan kedua (25%) setelah kematian yang disebabkan oleh penyakit kardiovaskular.³ Prevalensi penyakit infeksi di Timur tengah yaitu sebesar 11,8%. Sedangkan di Asia Tenggara prevalensinya cukup bervariasi, yaitu di Thailand 33,5%, Singapura 13%, dan di Indonesia sebesar 23,5%.⁴

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 sensitive lagi terhadap bakteri.^{5,6}

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. Salah satu diantara adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).⁷

Menurut penelitian, karakteristik fisik-kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak buah 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 *Staphylococcus aureus*.

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 *Staphylococcus aureus* secara in vitro?.
2. Berapakah konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro?.

1.3 Hipotesis

Ada efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* 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 bellimbi L.*) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

1.4.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui efektivitas antibakteri pada ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bellimbi L.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.
2. Untuk mengetahui konsentrasi efek antibakteri yang paling efektif dari ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bellimbi L.*) pada konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* 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 antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bellimbi L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.
2. Hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk bahan referensi yang terkait pengobatan terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro
3. Menambah pengetahuan dalam melaksanakan penelitian tentang efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bellimbi L.*) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

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

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dikenal dengan belimbing asam di Indonesia. Tumbuhan ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat luas sebagai buah meja, sayur dan obat. Belimbing wuluh Amerika selatan dan dikembangkan serta tumbuh bebas di Indonesia, Filipina, Sri Lanka, Myanmar, dan Malaysia. Di Indonesia nama sebutan belimbing wuluh berbeda-beda tiap daerah, antara lain limeng (Aceh), asam belimbing (Batak), malimbi (Nias), blimbing wuluh (Jawa), calincing wulet (Sunda), blingbling buloh (Bali).⁹

2.1.1 Taksonomi Tanaman Belimbing Wuluh

Taksonimi tanaman belimbing wuluh sebagai berikut:¹⁰

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 L</i>

2.1.2 Morfologi belimbing wuluh

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) pada umumnya di tanam sebagai usaha sambilan, 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.¹¹

A. Batang

Batang berbentuk tegak, permukaan kasar, banyak tonjolan, dan berwarna hijau kotor. Babitus berbentuk pohon setinggi 5-10 meter.^{10,11}

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.^{10,11}

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.^{10,11}

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.¹¹

E. Akar

Akar pohon adalah tunggang dan berwarna coklat kehitaman. Belimbing wuluh biasanya dapat tumbuh pada ketinggian 5-500 meter di atas permukaan laut. Tumbuhan ini lebih sering hidup liar dan biasanya di tanam untuk dijadiakn pohon buah.^{10,11}



Gambar 2.1 Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*)¹²

2.1.3 Kandungan kimia tanaman belimbing wuluh

Tanaman belimbing wuluh ini sangat bnyak 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 fospor, kalsium, dan besi.¹¹

Tanaman belimbing wuluh mengandung zat flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid.¹³ 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.¹⁰ Tanin berfungsi sebagai pertahanan melawan jamur dan bakteri pathogenik serta melawan pemakannya seperti serangga dan herbivora.¹³

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 kompleks 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.¹⁴

Pada triterpenoid memiliki struktur berstruktur siklik yang kebanyakan 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.¹¹

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.¹⁵

2.2 *Staphylococcus aureus*

Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini menurut pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning-keemasan.¹⁶

2.2.1 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Taksonomi pada bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu:¹⁷

Kingdom : *Eubacteria*
Filum : *Firmicutes*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2.2.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

Bakteri ini berbentuk sferis, susunan yang tidak teratur dikarenakan sisinya agak rata yang tertekan. Diameter bakteri antara 0,8-1,0 mikro. Bakteri ini tidak bergerak, tidak berspora, dan gram positif. Bakteri ini di laboratorium tumbuh dengan baik pada suhu 37°C. Pertumbuhan terbaik pada suasana aerob, bakteri ini juga bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya

mengandung hidrogen dan pH optimum. Batas suhu pertumbuhan 15°C dan 40°C, sedangkan suhu optimum adalah 35°C.¹⁷

Pada lempeng agar, koloninya berbentuk bulat, diameternya 1-2 mm, cembung, buram, mengkilap dan konsentrasi lunak.^{17,18}



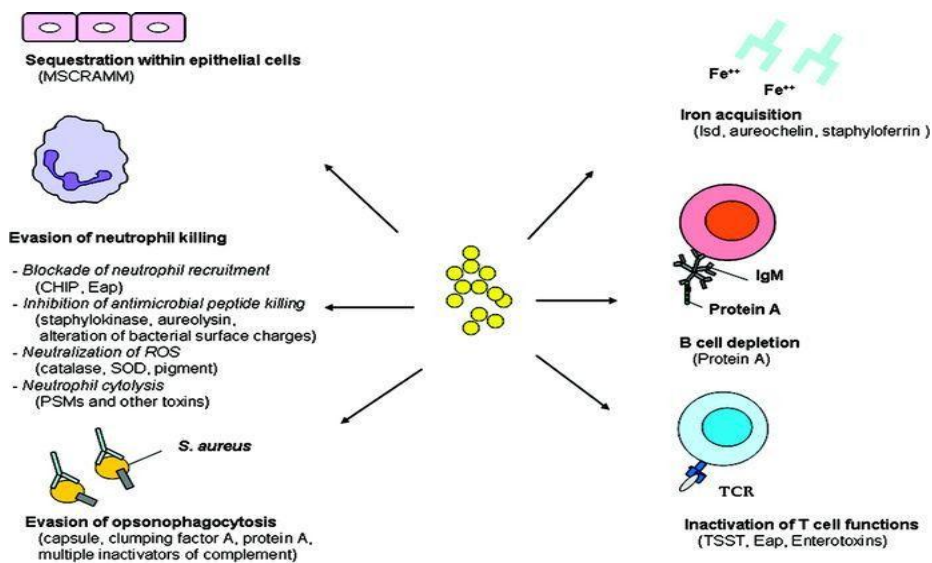
Gambar 2.2 *Staphylococcus aureus*.¹⁸

2.2.3 Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Infeksi *Staphylococcus aureus* terjadi ketika sesearang luka, bakteri *Staphylococcus aureus* awalnya ke jaringan bawah mukosa kulit pejamu, *peptidoglikan* dan *lipoprotein* pada *Staphylococcus aureus* mengakibatkan keluarnya produk pecahan hialuronan dan akan berikatan dengan *Toll Like Receptor* yang selama infeksi berlanjut, akan terus mengeluarkan sinyal pro inflamasi yang mengaktifkan sel imun dan mengeluarkan neutrofil dan makrofag.¹⁹

Staphylococcus aureus mengeluarkan 2 macam molekul, yaitu *Chemotaxis Inhibitor Protein* (CHP) dan *Extracelluler Adherence Protein* (EAP) yang berfungsi menghalangi neutrofil mengenali kemotaktik dan menghalangi

penempelan neutrofil dengan *Intracellular Cell Adherence Molecule-i* (ICAM-I) sehingga menghambat pelepasan leukosit, diapedesis dan ekstravasi aliran darah ke tempat infeksi, sehingga bakteri *Staphylococcus aureus* dapat melawan sifat fagosit yang dimiliki neutrofil terhadapnya.^{17,19}



Gambar 2.2.3 Pathogenesis *Staphylococcus aureus*.¹⁷

2.3 Antibiotik

2.3.1 Amoksisilin

Amoksisilin ditemukan pada tahun 1972, mengandung senyawa β -lactam, dan berperan sebagai inhibitor sintesis dinding sel. Amoksisilin bersifat bakteriolitik, mengandung tidak kurang dari 90,0% $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ dihitung sebagai zat anhidrat. Amoksisilin berwarna putih, sukar larut dalam air dan methanol dan mempunyai berat molekul 394.461 μg .²⁰

Amoksisilin termasuk obat yang paling banyak diresepkan, bahkan orang awam sering kali membeli tanpa menggunakan resep dokter. Amoksisilin

*merupakan antibiotik golongan penisilin dengan spektrum antimikroba yang luas dan juga sensitif terhadap kuman gram positif dan negatif.*²¹

2.3.2 Mekanisme Kerja Amoksisilin

Amoksisilin mempunyai sediaan dalam bentuk tablet (250 mg, dan 500 mg), suspensi oral (5 ml mengandung 125 mg atau 500 mg), vial sodium (250 mg, 500 mg, dan 1 g). Dosis umum amoksisilin 50-100 mg/kg berat badan per hari.²²

Amoksisilin mempunyai mekanisme kerja anti bakteri dengan cara membuat kerusakan pada dinding sel bakteri. Mekanisme dari β -lactam, protein mengikat penisilin yang spesifik (PBPs) yang berlaku sebagai obat reseptor bakteri. Penghambatan sintesis dinding sel dengan menghambat transpeptidasi dari peptidoglikan, dan pengaktifan enzim autolitik di dalam dinding sel, yang menghasilkan kerusakan sehingga akibatnya bakteri mati.²²

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.²³

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.²³

2.5 Uji Kepekaan Antibiotik

Kegunaan uji efektivitas 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.²⁴

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.^{24,25}

2.5.1.1 Metode dilusi cair (broth dilution test)

Metode ini mengukur MIC (minimum inhibitor concentration) atau KHM (minimum bactericidal concentration atau kadar bunuh minum, KMB). 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 KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM 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.^{24,25}

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.²⁴

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.²⁴

2.5.2.2 E-test

Metode E-test digunakan untuk mengestimasi MIC (minimum inhibitory concentration) atau KHM (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.²⁴

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.²⁴

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.²⁴

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 kemudia dituang kedalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituaang diatasnya.²⁴

Plate diinkubasi 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.²⁴

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 simplisia 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 ethanol, 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

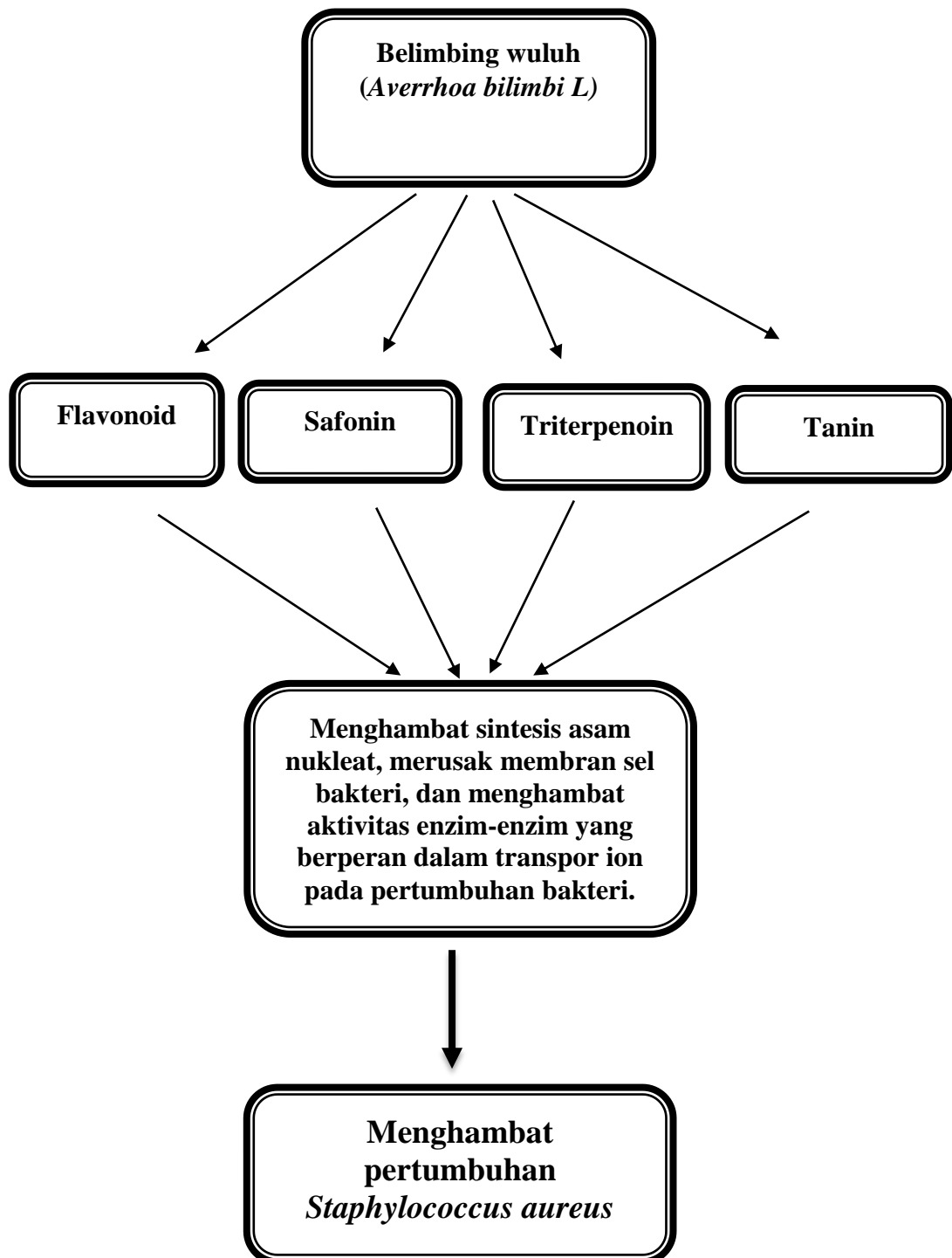
3. Perlokasi

Pada metode ini serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perlocator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambhaknya 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 homogeni 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 ekstarksi yang kontinyu, 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.^{26,27}

2.7 Kerangka Teori

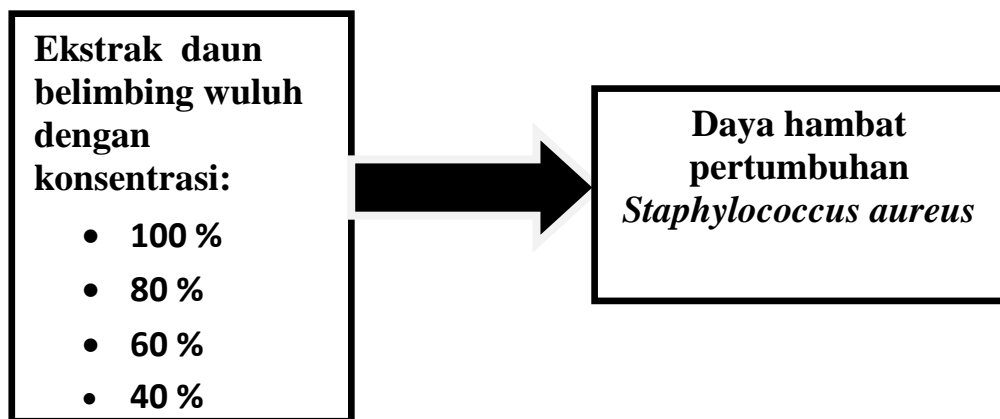


Gambar 2.7 Kerangka Teori

2.8 Kerangka Konsep

Variabel independen

Variabel dependen



Gambar 2.8 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 (Averrhoa bilimbi L.)	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 cara pengenceran dan dibentuk sediaan cair. Pada penelitian ini dipakai konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%.	Membuat ekstrak daun belimbing wuluh (Averrhoa L.) dengan cara melakukan perhitungan untuk mengatur konsentrasi yang dibutuhkan. Rumus : $V_1M_1=V_2M_2$	Didapatkan ekstrak daun belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi dengan konsenrasi : <ul style="list-style-type: none"> • 100% • 80% • 60% • 40% 	Ordinal

Variabel	Daya	hambat	Menghitung	Diameter	zona	Numerik
dependen:	dari	bakteri	diameter	zona	jernih pada media	
pertumbuhan	Staphylococcus		jernih	pada	pertumbuhan	
bakteri	aureus	adalah	media		bakteri	
Staphylococcus	diameter	zona	pertumbuhan			
aureus	jernih	yang	bakteri	dengan		
	terlihat di sekitar		menggubnakan			
	pada	media	jangka sorong			
	pertumbuhan					
	bakteri					

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan penelitian menggunakan 6 kelompok sebagai objek di antaranya kelompok perlakuan yaitu ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100% dan kelompok kontrol yaitu amoksisilin 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 Mei – Juni dalam rentang waktu penelitian selama 30 hari dan lokasi penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dan FMIPA 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, yaitu konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%, kelompok kontrol positif (amoksisilin 10 µg) dan kontrol negatif (aquades). Untuk pengulangan sampel rumus yang digunakan adalah rumus Federer.

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

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

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

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

keterangan:

n : besar sampel

$$\begin{aligned} (5n-5) &\geq 15 && t : \text{jumlah kelompok} \\ (5n) &\geq 20 \\ n &\geq 4 \end{aligned}$$

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

Kelompok 1	: Amoksisilin 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 *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan jangka sorong. Data yang diambil adalah data primer.

Tabel 3.3 Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat.²⁸

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
• > 20 mm	• Sensitif
• 6 -19 mm	• Intermediate
• < 5 mm	• Resistensi

3.5.1 Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan adalah:

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

Bahan yang digunakan adalah :

- a. Ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)
- b. Biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

- c. Aquabidest
- d. Amoksisilin
- e. Media Muller Hinton Agar
- f. NaCl 09%

3.5.2 Cara kerja

3.5.2.1 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus ATCC 25923 didapatkan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.5.2.2 Identifikasi daun belimbing wuluh

Cara mengidentifikasi daun belimbing wuluh adalah dilakukan dengan mengirim daun belimbing wuluh ke Herbarium Medanse (MEDA) Universitas Sumatera Utara. Daun belimbing wuluh didapat di halaman rumah di Jl. Hocky no.8 Medan. 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.)

Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) adalah metode maserasi. Di dalam metode maserasi menggunakan pelarut etanol sebanyak 96%. Sebanyak 500 gr daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) 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.²⁶

Ampas daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dimaserasi kembali dan diulang sebanyak 3 kali dengan 2 liter etanol 96% agar dapat dipastikan zak aktif daun belimbing wuluh terekstraksi secara sempurna. Hasil yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Filtrat dipekatkan 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 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/steroid

Sebanyak 5 mL sampel dimasukkan dalam gelas kimia, kemudian ditambah 2 mL kloroform dan diaduk. Selanjutnya ditambahkan pereaksi Salkowsky (H₂SO 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%100%

RUMUS :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan :

V1 : Volume larutan yang akan diencerkan (mL)

M1 : Konsentarsi ekstrak daun belimbing wuluh yang tersedia (%)

V2 : Volome larutan yang diinginkan (mL)

M2 : Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang dibuat (%)

Tabel 3.2 Volume ekstrak daun Belimbing wuluh yang dibutuhkan pada penelitian

M1	V2	M2	V1	V1 x 4
100%	1ml	40%	400 µl	16000 µl
100%	1 ml	60%	600 µl	32000 µl
100%	1 ml	80%	800 µl	80000 µl
100%	1 ml	100%	1000 µl	100000 µl
Total				228000 µl

Tabel 3.3 Volume kontrol yang dibutuhkan pada penelitian:

Kelompok	Volume sekalu uji	Total volume = V X 4
Kontrol negatif (Aquabidest)	1 ml	4 ml
Kontrol positif (Amoksisilin)	1 ml	4 ml

3.5.2.5 Uji daya hambat (difusi)

Uji kepekaan antimikroba dilakukan dengan membuat suspensi koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada NaCl 0,9% dengan standar kekeruhan Mc Farland 0,05. Kertas saring whatman disterilkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C selama 15 menit. Uji ekstrak daun belimbing wuluh

di lakukan dengan cara merendam kertas saring whatman yang sudah disetrilkan pada masing-masing konsentrasi ekstrak dengan volume 1ml selama 15 menit agar larutan dapat terserap kedalam cakram dengan baik²⁸

Kemudian semai suspensi dari koloni *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dengan menggunakan kapas lidi steril pada seluruh permukaan Muller Hinton agar secara merata. Lalu letakkan kertas saring whatman yang berisi bahan uji pada bagian tengah permukaan agar dengan menggunakan pinset steril dan tekan sedikit agar melekat dengan baik. Setelah itu inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Lalu baca uji daya hambat dengan mengukur zona jernih yang ada disekitar kertas cakram ekstrak dengan menggunakan jangka sorong.²⁸

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 ddibersihkan kemudian dimasukan ke dalam program komputer.

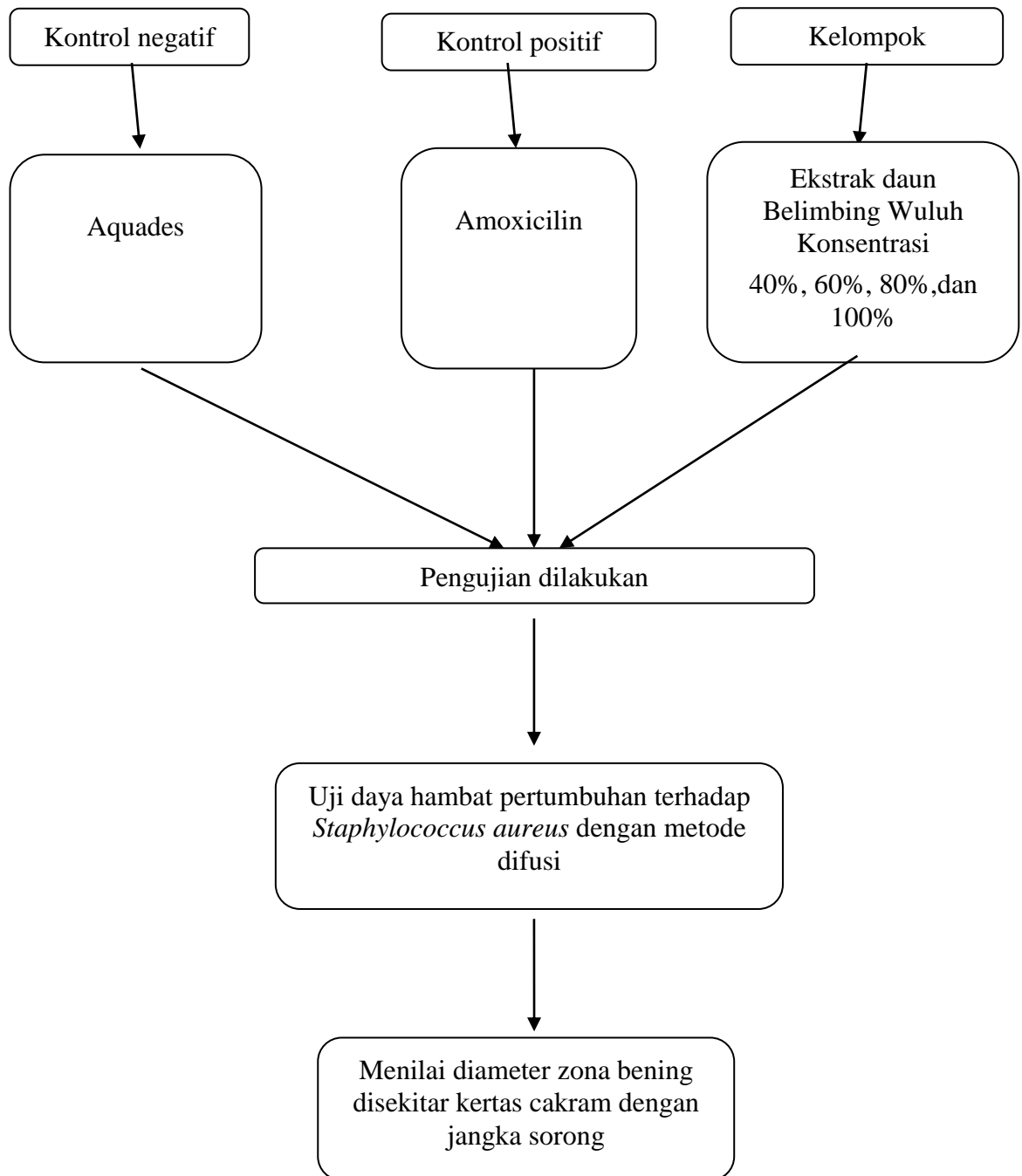
d. Pembersihan data (Cleaning)

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

Data yang diperoleh dari hasil penelitian 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 Anova. Jika ternyata data tidak normal, maka selanjutnya dilakukan transformasi data.

b. Uji Varians 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 Anova.

c. Uji One Way Anova

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

Pada BAB IV ini ditunjukkan beberapa gambar, tabel dan grafik histogram rata-rata data hasil analisis dari penelitian yang dilakukan selama 8 hari. Urutan tampilan hasil dan pembahasan dari penelitian ini adalah : (1) skrining fitokimia senyawa bahan alam; (2) hasil pengukuran daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan hasil uji efektivitas daun belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; (3) pembahasan penelitian.

4.1 Skrining Fitokimia Bahan alam

4.1 Hasil skrining fitokimia senyawa bahan alam

SAMPEL : DAUN BELIMBING WULUH	
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 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4.2 Hasil pengukuran daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan hasil uji efektivitas daun belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tabel 4.2 Hasil pengukuran daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pengulangan	Diameter daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (dalam satuan mm)					
	Ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) dengan konsentrasi				Kontrol +	Kontrol -
	40%	60%	80%	100%		
Pengulangan 1	13,80	17,09	19,23	23,62	31,75	0
Pengulangan 2	13,78	17,15	18,22	22,30	34,00	0
Pengulangan 3	14,31	17,87	19,28	22,97	34,04	0
Pengulangan 4	14,51	17,38	18,20	23,10	34,01	0

Pada tabel 4.2 didapati hasil bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan zona jernih yang dihasilkan. Pada konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 40% pengulangan ke 4 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 14,51 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 60% pengulangan ke 3 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 17,38 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 80% pada pengulangan ke 3 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 19,28 mm. Pada konsentarsi ekstrak daun belimbing wuluh 100% pengulangan ke 1 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 23,65 mm. Pada kelompok kontrol positif yaitu amoksisilin pada pengulangan ke 3 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 34,04 mm, sedangkan pada kelompok negatif yaitu Aquabidest tidak ditemukan zona hambat.

4.2.1 Uji Normalitas Shapiro-Wilk Dan Homogenitas

Tabel 4.3 Hasil analisis uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji Homogenitas

Kelompok	Uji Normalitas Shapiro-Wilk	Uji Homogenitas
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	0,420	
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	0,319	
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	0,045	0,006
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	0,869	
Amoksisilin	0,001	

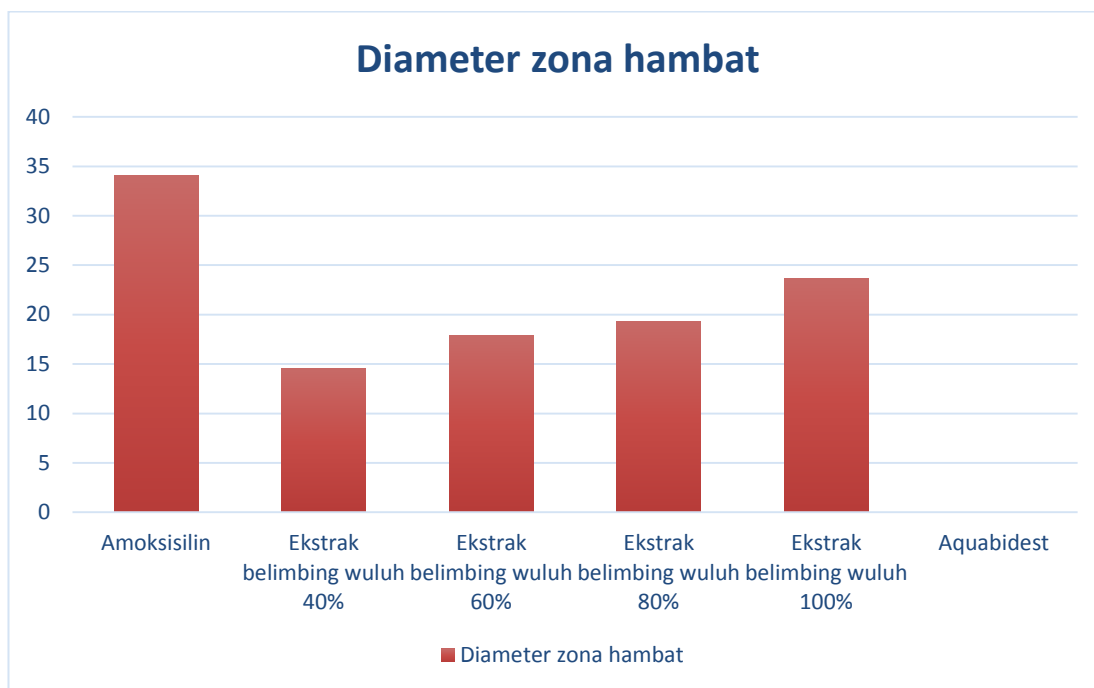
Pada hasil analisis diperoleh nilai normalitas untuk ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 40% adalah 0,420 ($p > 0,05$). Pada ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 60% adalah 0,319 ($p > 0,05$). Pada ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 80% adalah 0,045 ($p < 0,05$). Pada ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 100% adalah 0,869 ($p > 0,05$). Dan pada amoksisilin adalah 0,001 ($p < 0,05$) yang berarti data tersebut tidak berdistribusi normal. Sedangkan pada uji homogenitas data, diperoleh 0,006 ($p < 0,05$) yang berarti data tidak homogen.

4.2.2 Uji Kruskal-Wallis

Tabel 4.4 Hasil Uji Kruskal-Wallis disertai dengan rata-rata dan standart deviasi

Kelompok	n	Rata-rata \pm s.deviasi	P
Amoksisilin	4	34,02 \pm 0,03	
Aquabidest	4	0,00 \pm 0,00	
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	4	14,07 \pm 0,39	0,000
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	4	17,37 \pm 0,35	
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	4	18,73 \pm 0,60	
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	4	22,99 \pm 0,54	

Pada hasil analisis diperoleh nilai rata-rata Amoksisilin adalah 34,02 mm sedangkan standar deviasi diperoleh 0,03 mm. Pada Aquabidest diperoleh rata-rata 0 dan standar deviasi 0. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 40% diperoleh nilai rata-rata yaitu 14,07 mm dengan standar deviasi 0,39 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 60% diperoleh nilai rata-rata yaitu 17,37 mm dengan standart deviasi 0,35 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 80% diperoleh nilai rata- rata yaitu 18,73 mm dengan standar deviasi 0,60 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 100% diperoleh nilai rata-rata yaitu 22,90 mm dengan standar deviasi 0,54 mm. Hasil Uji Kruskall-Wallis diperoleh $p < 0,05$ yang membuktikan bahwa tiap perlakuan yang diujikan terdapat perbedaan zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh konsentrasi 40%, 60%, 80 % dan 100% serta kelompok kontrol positif (cakram Amoksisilin) dan cakram kontrol negatif (Aquabidest).



Gambar 4.1 Grafik rata-rata zona hambat semua kelompok

Pada gambar 4.2 Grafik rata-rata zona jernih menunjukkan Amoksisilin memiliki zona jernih tertinggi dengan rata-rata 34,04 mm. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekstrak daun Belimbing wuluh 40% dengan rata-rata zona jernih 14,51 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 60% dengan rata-rata zona jernih 17,87 mm, pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 80% dengan rata-rata zona jernih 19,28 mm, sedangkan pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 100% dengan rata-rata zona jernih 23,62 mm dan Aquabidest tidak diperoleh zona jernih atau 0.

4.2.3 Uji Mann-Whitney

Tabel 4.5 Uji Mann-Whitney antara Amoksisilin dengan Aquabidest

Kelompok	n	P	Keterangan
Amoksisilin	4	0,011	Signifikan
Aquabidest	4		

Pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa Amoksisilin dibandingkan kontrol negatif diperoleh 0,011 ($p < 5$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Amoksisilin dengan Aquabidest.

Tabel 4.6 Uji Mann-Whitney antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40%

Kelompok	n	P	Keterangan
Amoksisilin	4	0,017	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	4		

Pada tabel 4.6 menunjukkan bahwa Amoksisilin dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40% diperoleh 0,017 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40%

Tabel 4.7 Uji Mann-Whitney antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%

Kelompok	n	P	Keterangan
Amoksisilin	4	0,018	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	4		

Pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa Amoksisilin dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60% diperoleh 0,018 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%.

Tabel 4.8 Uji Mann-Whitney antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%

Kelompok	n	P	Keterangan
Amoksisilin	4	0,018	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	4		

Pada tabel 4.8 menunjukkan bahwa Amoksisilin dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80% diperoleh 0,018 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%.

Tabel 4.9 Uji Mann-Whitney antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%

Kelompok	n	P	Keterangan
Amoksisilin	4	0,018	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	4		

Pada tabel 4.9 menunjukkan bahwa Amoksisilin dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100% diperoleh 0,018 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Amoksisilin dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%.

Tabel 4.10 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40%

Kelompok	n	P	Keterangan
Aquabidest	4	0,013	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	4		

Pada tabel 4.10 menunjukkan bahwa Aquabidest dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40% diperoleh 0,013 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 40%.

Tabel 4.11 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%

Kelompok	n	P	Keterangan
Aquabidest	4	0,014	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	4		

Pada tabel 4.11 menunjukkan bahwa Aquabidest dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60% diperoleh 0,014 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%.

Tabel 4.12 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%

Kelompok	n	P	Keterangan
Aquabidest	4	0,014	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	4		

Pada tabel 4.12 menunjukkan bahwa Aquabidest dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80% diperoleh 0,014 ($p < 0,05$) yaitu adanya

perbedaan daya hambat antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%.

Tabel 4.13 Uji Mann-Whitney antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%

Kelompok	n	P	Keterangan
Aquabidest	4	0,014	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	4		

Pada tabel 4.13 menunjukkan bahwa Aquabidest dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100% diperoleh 0,013 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara Aquabidest dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%.

Tabel 4.14 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%

Kelompok	n	P	Keterangan
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	4	0,020	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	4		

Pada tabel 4.14 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 40% dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60% diperoleh 0,020 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 60%.

Tabel 4.15 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%

Kelompok	n	P	Keterangan
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	4	0,020	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	4		

Pada tabel 4.15 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 40% dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80% diperoleh 0,020

($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%.

Tabel 4.16 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%

Kelompok	n	P	Keterangan
Ekstrak daun belimbing wuluh 40%	4	0,020	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	4		

Pada tabel 4.16 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 40% dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100% diperoleh 0,020 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun belimbing wuluh 40% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%.

Tabel 4.17 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 60% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%

Kelompok	n	P	Keterangan
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	4	0,021	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	4		

Pada tabel 4.17 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 60% dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80% diperoleh 0,021 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun belimbing wuluh 60% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 80%.

Tabel 4.18 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 60% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%

Kelompok	n	P	Keterangan
Ekstrak daun belimbing wuluh 60%	4	0,021	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	4		

Pada tabel 4.18 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 60% dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100% diperoleh 0,021 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun belimbing wuluh 60% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%.

Tabel 4.19 Uji Mann-Whitney antara ekstrak daun belimbing wuluh 80% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%

Kelompok	n	P	Keterangan
Ekstrak daun belimbing wuluh 80%	4	0,021	Signifikan
Ekstrak daun belimbing wuluh 100%	4		

Pada tabel 4.19 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 80% dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100% diperoleh 0,021 ($p < 0,05$) yaitu adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak daun belimbing wuluh 80% dengan ekstrak daun belimbing wuluh 100%.

4.3. Pembahasan Penelitian

Dari hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara in vitro terlihat perbedaan nilai yang diperoleh dengan masing-masing konsentrasi 40%, 60%, dan 80% yang merupakan kategori intermediate, sedangkan konsentrasi 100% merupakan ategori sensitive. Pada penelitian ini bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Destriani, 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.³⁰ Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan Zakaria menyatakan ekstrak belimbing wuluh dengan menggunakan teknik cakram difusi terdapat adanya daya hambat pada beberapa bakteri gram positif dan negatif.³¹

Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan Estri noviana, menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin baik efek yang dihasilkan.³² Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat dan kuvaini juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun surian akan menghasilkan daya hambat yang semakin baik pula.³³

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.³⁴

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, namun efek tersebut lebih kecil jika dibandingkan dengan efek amoksisilin, karena dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%, terdapat daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, maka daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 semakin baik.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil pembahasan maka dapat diambil suatu kesimpulan yaitu:

1. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100% memiliki efek daya hambat antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Konsentrasi minimal ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 40%
3. Konsentrasi 100% dari ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) menghasilkan zona hambat paling tinggi dalam pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
4. Efektivitas ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) secara in vitro dengan metode yang berbeda seperti dengan menggunakan secara in vivo.
2. Penelitian perlu dilanjutkan dengan membandingkan daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) pada bakteri gram positif dan negatif lainnya seperti bakteri *E.coli*, *Salmonella sp*, *Streptococcus aureus* dan lain lain.
3. 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. Mutadi, Ambarwati R YR. Aktivitas antibakteri etanol dan fraksi kulit batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Kiebsiella pneumoneae* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Univ Muhammadiyah Surakarta*. 2012.
2. Mandala B, Wilkins E, Dunbar E M-WR...*Lecture Notes Penyakit Infeksi*. . EGC. Jakarta.2007
3. WHO..*Infection Diseases are the Biggest Killer of the Young*. 2012
4. Asri RC, Rasyid R.. artikel Penelitian Identifikasi MRSA pada Diafragma Stetoskop di Ruang Rawat Inap dan HCU Bagian Penyakit Dalam.; 2014.6(2):239-244.
5. RI M.. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. *Peratur Menteri Kesehat NO 72 TAHUN 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. Abrar, B. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap mencit diabetes. 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. Muzaifa M.. IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS DARI BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.). *J Sagu.*; 2014.13(1):8-13.
<http://ejournal.unri.ac.id/index.php/JSG/article/view/2130>.
10. Lestari EE, Kurniawaty E.. Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L .) sebagai Pengobatan Diabetes Melitus The Effectiveness Test for Extract Wuluh Starfruit Leaf (*Averrhoa bilimbi* L .) as Diabetes Mellitus Treatment. 2012:2-6.
11. Liantari DS.. EFFECT OF WULUH STARFRUIT LEAF EXTRACT FOR *Streptococcus mutans* GROWTH. *J Major.*;3(7):27-33.
<http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/473/474>.
12. Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda. 2014
13. 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
14. 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>.
15. Mahardika CN.. Jurnal Riset Kesehatan TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Staphylococcus Aureus*. 2017;6(2):62-65.
 16. Yuwono..*Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). 2013:1-2. <http://eprints.unsri.ac.id/1482/>.
 17. FK UI..*Buku Ajar Mikrobiologi*. Edisi Revi. Jakarta: Binapura Aksara; 2009
 18. Elliott T, Worthington T, Osman H GM.. *Mikrobiologi Kedokteran Dan Infeksi Edisi 4*. EGC. Jakarta;. 2013
 19. Liu GY.. Molecular Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Infection. *PediatrRes*.2009;65:71-77.doi:10.1203/PDR.0b013e31819dc44d.Molecular
 20. Palilingan W, Kepel BJ, Fatimawali.. Uji Resistensi Bakteri *Pseudomonas* sp yang Diisolasi dari Plak Gigi terhadap Merkuri dan Antibiotik Amoksisilin. *J e-Biomedik*. 2015;3(September-Desember):716-721.
 21. Indang N, Guli MM, Alwi M.. Uji Resistensi dan Sensitivitas Bakteri *Salmonella thypi* Pada Orang Yang Sudah Pernah Menderita Demam Tifoid Terhadap Antibiotik. *Jurnal Biocelebes*. 2013;7(1):27-34.
 22. Wijo Kongko Kartika Yudha Sujadmiko dan Prima Retno Wikandari.. RESISTENSI ANTIBIOTIK AMOKSISILIN PADA STRAIN *Lactobacillus plantarum* B1765 SEBAGAI KANDIDAT KULTUR PROBIOTIK. 2017;6(1).
 23. Sayuti K, Yenrina R..*Antioksidan Alami Dan Sintetik*.Jakarta : FKUI:2015
 24. Pratiwi S.. *Mikrobiologi farmasi.Edisi 5*. Jakarta: EGC. 2008
 25. 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>.
 26. Mukhriani. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi aktif. Makassar. Universitas Islam Negeri. 2014;2:44-49.
 27. Munawaroh S HP. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan pelarut etanol dan n-heksana. Semarang: Universitas Negeri Semarang. 2014;2:6-9.
 28. Surjowardojo P, Susilorini TE, Panjaitan AA. DAYA HAMBAT JUS KULIT APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI PERAH. 2015;16(2):30-39.
 29. 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.

30. Desriani D, Safira UM, Bintang M, Rivai A, Lisdiyanti P. Isolasi dan karakterisasi bakteri endofit dari tanaman binahong dan katepeng china. Jurnal Kesehatan Andalas. 2014.May 1;3(2)
31. Zakaria A, Zaiton H,dkk. In vitro antibacterial activity of *Averrhoa bilimbi* L. Leaves and fruit extract. Malaysia. Fakultas farmasi Universitas teknologi Mara. Internasional journal of tropical medicine : Medwell journal.2015.
32. Noviana E. Uji potensi Ekstrak daun Suren (*Toona sureni*) sebagai insektisida ulat grayak pada tanaman kedelai. Surakarta : Fakultas pertanian Universitas sebelas maret. 2011
33. Hidayat Y dan Kuvaini A,.Keefektifan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam pengendalian larva boktor (*Xystrocera festiva* Fascoe). Agrikultura. 2015;Agustus;16(2).
34. Datu T, Mita N RR..Aktivitas antibakteri saribuah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Psudomonas aeruginosa*. Kalimantan : Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman. 2015.

Lampiran 1 : Uji Normalitas

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
zona_hambat	kontrol +	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	kontrol -	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	40%	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	60%	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	80%	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%
	100%	4	100,0%	0	0,0%	4	100,0%

Descriptives^a

		perlakuan		Statistic	Std. Error
zona_hambat	kontrol +	Mean		34,0250	,01500
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	33,9773	
			Upper Bound	34,0727	
		5% Trimmed Mean		34,0267	
		Median		34,0400	
		Variance		,001	
		Std. Deviation		,03000	
		Minimum		33,98	
		Maximum		34,04	
		Range		,06	
		Interquartile Range		,05	
		Skewness		-2,000	1,014
		Kurtosis		4,000	2,619
		40%	Mean		14,0775
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound		13,4488		
	Upper Bound		14,7062		

	5% Trimmed Mean		14,0750	
	Median		14,0550	
	Variance		,156	
	Std. Deviation		,39508	
	Minimum		13,69	
	Maximum		14,51	
	Range		,82	
	Interquartile Range		,74	
	Skewness		,150	1,014
	Kurtosis		-4,417	2,619
60%	Mean		17,3725	,17722
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	16,8085	
		Upper Bound	17,9365	
	5% Trimmed Mean		17,3606	
	Median		17,2650	
	Variance		,126	
	Std. Deviation		,35444	
	Minimum		17,09	
	Maximum		17,87	
	Range		,78	
	Interquartile Range		,64	
	Skewness		1,341	1,014
	Kurtosis		1,302	2,619
80%	Mean		18,7325	,30187
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	17,7718	
		Upper Bound	19,6932	
	5% Trimmed Mean		18,7317	
	Median		18,7250	
	Variance		,364	

	Std. Deviation		,60373	
	Minimum		18,20	
	Maximum		19,28	
	Range		1,08	
	Interquartile Range		1,06	
	Skewness		,005	1,014
	Kurtosis		-5,960	2,619
100%	Mean		22,9975	,27161
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	22,1331	
		Upper Bound	23,8619	
	5% Trimmed Mean		23,0017	
	Median		23,0350	
	Variance		,295	
	Std. Deviation		,54322	
	Minimum		22,30	
	Maximum		23,62	
	Range		1,32	
	Interquartile Range		1,02	
	Skewness		-,404	1,014
	Kurtosis		1,313	2,619

a. zona_hambat is constant when perlakuan = kontrol -. It has been omitted.

Tests of Normality^b

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona_hambat	kontrol +	,441	4	.	,630	4	,001
	40%	,259	4	.	,898	4	,420
	60%	,242	4	.	,875	4	,319
	80%	,302	4	.	,758	4	,045
	100%	,230	4	.	,974	4	,869

a. Lilliefors Significance Correction

b. zona_hambat is constant when perlakuan = kontrol -. It has been omitted.

Lampiran 2 : Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

zona_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,774	5	18	,006

Lampiran 3 : Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
zona_hambat	kontrol +	4	22,50
	kontrol -	4	2,50
	40%	4	6,50
	60%	4	10,50
	80%	4	14,50
	100%	4	18,50
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	zona_hambat
Chi-Square	22,547
df	5
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

Lampiran 4 : Uji Mann-Whitney

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol +	4	6,50	26,00
	kontrol -	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,530
Asymp. Sig. (2-tailed)	,011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol +	4	6,50	26,00
	40%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,381
Asymp. Sig. (2-tailed)	,017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol +	4	6,50	26,00
	60%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol +	4	6,50	26,00
	80%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol +	4	6,50	26,00
	100%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,366
Asymp. Sig. (2-tailed)	,018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol -	4	2,50	10,00
	40%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol -	4	2,50	10,00
	60%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol -	4	2,50	10,00
	80%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	kontrol -	4	2,50	10,00
	100%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	2,50	10,00
	60%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	2,50	10,00
	80%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	40%	4	2,50	10,00
	100%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	60%	4	2,50	10,00
	80%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	60%	4	2,50	10,00
	100%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	80%	4	2,50	10,00
	100%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran 5 : Dokumentasi

Dokumentasi pembuatan Ekstrak daun belimbing wuluh



Proses penjemuran daun



Perendaman daun yang sudah dikeringkan
(Maserasi)



Proses pengestrakan daun belimbing wuluh



Dokumentasi uji efektivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*



Ekstrak daun belimbing wuluh



Pengujian ekstrak




Uji bakteri



Hasil daya hambat

Lampiran 6 : 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 : 133 / KEPK/FKUMSU/2018

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Dhifo Indratama
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 EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (*AVERRHOA BILIMBI L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SECARA INVITRO"

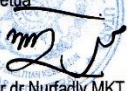
"ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS TEST LEAVES OF CUCUMBER TREE EXTRACT (*AVERRHOA BILIMBI L.*) ON THE GROWTH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BACTERIA IN VITRO "


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 Guadelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 07 Agustus 2018 sampai dengan tanggal 07 Agustus 2019

The declaration of ethics applies during the periode August 07, 2018 until August 07, 2019

Medan, 07 Agustus 2018
Ketua

Dr. dr. Nurfadly, MKT



Lampiran 7 : Identifikasi tumbuhan



**HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

Jl. Bioteknologi 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 : Dhifo Indratama
NPM : 1508260038
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 8 : 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 :

DHIFO INDRATAMA

Dengan hasil uji Skrining sebagai berikut :

SAMPLE : 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

Lampiran 9 : Daftar Riwayat Hidup

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama : Dhifo Indratama
 Jenis Kelamin : Laki-Laki
 Tempat/Tanggal Lahir : Padang / 01 Desember 1997
 Agama : Islam
 Alamat : Jl. Bromo (Komplek bromo residence blok C no.16
 Medan Denai, Medan, Sumatera Utara
 Email : indratamadhifo@gmail.com
 No tel/Hp : 082388129228
 Riwayat pendidikan :

1. SD Negeri 07 Pasaman : Tahun 2003 - 2009
2. Pesantren Terpadu Serambi Mekkah : Tahun 2009 - 2012
3. Madrasah Aliyah Negeri 2 Padang : Tahun 2012 - 2015
4. Fakultas Kedokteran Umsu : Tahun 2015 – sekarang

**UJI EFEKTIVITAS ANTIBIOTIK EKSTRAK DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*
SECARA IN VITRO**

**Dhifo indratama¹, dr. Yenita, M.Biomed², dr. Ance Roslina.M, Kes³,
dr. Ilham Hariaji, M, Biomed⁴**

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

²Departemen Farmakologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

³Departemen Farmakologi Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

⁴Departemen Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Sumatera
Utara

ABSTRACT

Background : Infection is the most common disease in Indonesia. Infection diseases are caused by microorganisms such as the *Staphylococcus aureus*. 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 *Staphylococcus aureus* 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. **Result :** Leaves of Cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L.) at concentrations of 40%, 60%, 80%, 100%, amoksisilin, and aquabidest resulted in average diameter of clear zone. **Conclusion :** leaves of Cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L.) have an inhibitory power against *Staphylococcus aureus*.

Key word : Leaves of Cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L.), *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit terbanyak di Indonesia. Penyakit infeksi dapat menular dari satu orang ke orang yang lain atau dari hewan ke manusia yang disebabkan beberapa mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur.¹

Mikroba yang menyebabkan infeksi salah satunya bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini umumnya ada di udara, debu, limbah, tumbuh pada makanan dan menghasilkan enterotoksin tetapi tidak mempengaruhi bentuk luar makanan tersebut. Gejala yang sering ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* biasanya demam, mual, muntah, diare dan ruam pada kulit.²

Penyakit infeksi merupakan penyakit penyebab kematian pada anak-anak maupun dewasa dengan lebih dari 13 juta jiwa setiap tahunnya, WHO melaporkan bahwa penyakit infeksi menempati urutan kedua (25%) setelah kematian yang disebabkan oleh penyakit kardiovaskular.³ Prevalensi penyakit infeksi di Timur tengah yaitu sebesar 11,8%. Sedangkan di Asia Tenggara prevalensinya cukup bervariasi, yaitu di Thailand 33,5%, Singapura 13%, dan di Indonesia sebesar 23,5%.⁴

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 sensitive lagi terhadap bakteri.^{5,6}

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. Salah satu diantara adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*).⁷

Menurut penelitian, karakteristik fisik-kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak buah 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

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan rancangan penelitian menggunakan 6 kelompok sebagai objek di antaranya kelompok perlakuan yaitu ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100% dan kelompok kontrol yaitu amoksisilin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif. Pada kelompok perlakuan dilakukan pengukuran setelah hasil pengukuran tersebut kemudian

dibandingkan dengan hasil kelompok kontrol.

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, yaitu konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%, kelompok kontrol positif (amoksisilin 10 μg) dan kontrol negatif (aquades). Untuk pengulangan sampel rumus yang digunakan adalah rumus Federer.

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

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

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

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

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

$$(5n) \geq 20$$

$$n \geq 4$$

ket : n : besar sampel

t : jumlah kelompok

ANALISA DATA

Data hasil penelitian pengaruh ekstrak daun Belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan dengan mengukur lebar zona jernih dianalisis dengan menggunakan program statistik komputer, untuk melihat efektivitas yang bermakna dari masing-masing cakram uji, yaitu cakram amoksisilin (kontrol positif), cakram *aquadest* (kontrol negatif), dan cakram yang mengandung ekstrak daun Belimbing wuluh dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% Data pada penelitian ini diuji apakah berdistribusi normal atau tidak. Didapatkan data tidak berdistribusi normal tetapi homogeny. Maka data dianalisis dengan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal Wallis Test*

dan dilanjutkan dengan uji tanda beda Man Whitney Test.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara selama 8 hari. Untuk melakukan pengukuran dilakukan menggunakan alat jangka sorong dalam satuan millimeter. Hasil pengukuran efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut

Pengulangan	Diameter daya hambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (dalam satuan mm)					
	Ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi L.</i>) dengan konsentrasi				Kontrol +	Kontrol -
	40%	60%	80%	100%		
Pengulangan 1	13,80	17,09	19,23	23,62	31,75	0
Pengulangan 2	13,78	17,15	18,22	22,30	34,00	0
Pengulangan 3	14,31	17,87	19,28	22,97	34,04	0
Pengulangan 4	14,51	17,38	18,20	23,10	34,01	0

Pada tabel 4.2 didapati hasil bahwa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan zona bening yang dihasilkan. Pada konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 40% pengulangan ke 4 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 14,51 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 60% pengulangan ke 3 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 17,38 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 80% pada pengulangan ke 3 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 19,28 mm. Pada konsentarsi ekstrak daun belimbing wuluh 100% pengulangan ke 1 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 23,65 mm. Pada kelompok kontrol positif yaitu amoksisilin pada pengulangan ke 3 diperoleh zona hambat tertinggi yaitu 34,04 mm, sedangkan pada kelompok

negatif yaitu Aquabidest tidak ditemukan zona hambat.

Pada hasil analisis diperoleh nilai rata-rata Amoksisilin adalah 34,02 mm sedangkan standar deviasi diperoleh 0,03 mm. Pada Aquabidest diperoleh rata-rata 0 dan standar deviasi 0. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 40% diperoleh nilai rata-rata yaitu 14,07 mm dengan standar deviasi 0,39 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 60% diperoleh nilai rata-rata yaitu 17,37 mm dengan standart deviasi 0,35 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 80% diperoleh nilai rata-rata yaitu 18,73 mm dengan standar deviasi 0,60 mm. Pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh 100% diperoleh nilai rata-rata yaitu 22,90 mm dengan standar deviasi 0,54 mm. Hasil Uji Kruskal-Wallis diperoleh $p < 0,05$ yang membuktikan bahwa tiap perlakuan yang diujikan terdapat perbedaan zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi ekstrak daun Belimbing wuluh konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100% serta kelompok kontrol positif (cakram Amoksisilin) dan cakram kontrol negatif (*Aquadest*).

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro terlihat perbedaan nilai yang diperoleh dengan masing-masing konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100%. Pada penelitian ini bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Destriani, didapatkan 14 isolat bakteri endofitik dari tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) yang menghasilkan antibiotika, 6 isolat bakteri memiliki zona bening 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.³⁰ Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan Zakaria menyatakan ekstrak belimbing wuluh dengan menggunakan teknik cakram difusi terdapat adanya daya hambat pada beberapa bakteri gram positif dan negatif.³¹

Berdasarkan penelitian lain yang dilakukan Estri noviana, menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin baik efek yang dihasilkan.³² Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat dan kuvaini juga menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun surian akan menghasilkan daya hambat yang semakin baik pula.³³

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.³⁴

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, namun efek tersebut lebih kecil jika dibandingkan dengan efek amoksisilin, karena dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100%, terdapat daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh, dimana semakin besar konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, maka daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* semakin baik.

KESIMPULAN

Ekstrak daun belimbing wuluh memiliki efek antibiotik terhadap

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjut tentang efek antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) secara in vitro dengan metode yang berbeda. Penelitian perlu dilanjutkan dengan membandingkan daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) pada bakteri gram positif dan negatif lainnya. 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. Mutadi, Ambarwati R YR. 2012. Aktivitas antibakteri etanol dan fraksi kulit batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri *Kiebsiella pneumoneae* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Univ Muhammadiyah Surakarta*.
2. Mandala B, Wilkins E, Dunbar E M-WR. 2007. *Lecture Notes Penyakit Infeksi*. . EGC. Jakarta
3. WHO. 2012. Infection Diseases are the Biggest Killer of the Young.
4. Asri RC, Rasyid R. 2014. artikel Penelitian Identifikasi MRSA pada Diafragma Stetoskop di Ruang Rawat Inap dan HCU Bagian Penyakit Dalam.;6(2):239-244.
5. RI M. 2016. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. *Peratur Menteri Kesehat NO 72 TAHUN 2016*.:4.
6. Cahyaningsih I, Wiedyaningsih C, Kristina SA. 2013. Effect of Education on the Level of Community Knowledge about Analgesic in Cangkringan , Sleman Regency , Yogyakarta.

- Mutiara Med.*;13(2):98-104.
7. Abrar, B. 2012. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap mencit diabetes.
 8. Ayu P, Devi C, Zubaidah E, Sriherfyna FH. 2016. 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.;4(1):400-409.
 9. Muzaifa M. 2014. IDENTIFIKASI BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS DARI BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.). *J Sagu.*;13(1):8-13.
<http://ejournal.unri.ac.id/index.php/JSG/article/view/2130>.
 10. Lestari EE, Kurniawaty E. 2012. Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Pengobatan Diabetes Melitus The Effectiveness Test for Extract Wuluh Starfruit Leaf (*Averrhoa bilimbi* L.) as Diabetes Mellitus Treatment.:2-6.
 11. Liantari DS. 2014. EFFECT OF WULUH STARFRUIT LEAF EXTRACT FOR Streptococcus mutans GROWTH. *J Major.*;3(7):27-33.
<http://joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/473/474>.
 12. Dalimartha S. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda.
 13. St. Maryam, Saidah juniasti RK. 2015. Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) ASAL KOTA WATAMPONE.;7(1):60-69.
doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2
 14. Fahrunnida, Pratiwi R. 2009. Kandungan Saponin Buah, Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Pendidik Biol Pendidik Geogr Pendidik Sains, PKLH – FKIP UNS.*:220-224.
<http://jurnal.fkip.uns.ac.id/index.php/kpsda/article/view/5378/3794>.
 15. Mahardika CN. 2017. Jurnal Riset Kesehatan TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Staphylococcus Aureus*.;6(2):62-65.
 16. Yuwono. 2013. *Staphylococcus aureus* dan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).:1-2.
<http://eprints.unsri.ac.id/1482/>.
 17. FK UI. 2009. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Edisi Revi. Jakarta: Binapura Aksara;
 18. Elliott T, Worthington T, Osman H GM. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran Dan Infeksi Edisi 4*. EGC. Jakarta.;
 19. Liu GY. 2009. Molecular Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Infection. *Pediatr Res.*;65:71-77.
doi:10.1203/PDR.0b013e31819dc44d.Molecular
 20. Palilingan W, Kepel BJ, Fatimawali.2015. Uji Resistensi Bakteri *Pseudomonas* sp yang Diisolasi dari Plak Gigi terhadap Merkuri dan Antibiotik Amoksisilin. *J e-Biomedik.*;3(September-Desember):716-721.

21. Indang N, Guli MM, Alwi M. 2013. Uji Resistensi dan Sensitivitas Bakteri Salmonella thypi Pada Orang Yang Sudah Pernah Menderita Demam Tifoid Terhadap Antibiotik. *Jurnal Biocelebes.*;7(1):27-34.
22. Wijo Kongko Kartika Yudha Sujadmiko dan Prima Retno Wikandari. 2017. RESISTENSI ANTIBIOTIK AMOKSISILIN PADA STRAIN Lactobacillus plantarum B1765 SEBAGAI KANDIDAT KULTUR PROBIOTIK.;6(1).
23. Sayuti K, Yenrina R. 2015. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Jakarta : FKUI
24. Pratiwi S. 2008. *Mikrobiologi farmasi. Edisi 5*. Jakarta: EGC
25. Rosyidah K, Nurmuhaimina SA, Komari N. 2010. Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (Mangifera casturi). *Alchemy.*;1(2):65-69.
<http://ejournal.uin-malang.ac.id/index.php/Kimia/article/view/1674>.
26. Mukhrani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi aktif. Makassar. Universitas Islam Negeri.;2:44-49.
27. Munawaroh S HP. 2014. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C) dengan pelarut etanol dan n-heksana. Semarang: Universitas Negeri Semarang.;2:6-9.
28. Surjowardojo P, Susilorini TE, Panjaitan AA. 2015. DAYA HAMBAT JUS KULIT APEL MANALAGI (Malus sylvestris Mill.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Staphylococcus aureus DAN Escherichia coli PENYEBAB MASTITIS PADA SAPI PERAH.;16(2):30-39.
29. Agustina S, Wiraningtyas A, Bima K. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem.*;4(1):71-76.
30. 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*. May 1;3(2)
31. Zakaria A, Zaiton H, dkk. 2015. In vitro antibacterial activity of Averrhoa bilimbi L. Leaves and fruit extract. Malaysia. Fakultas farmasi Universitas teknologi Mara. *Internasional journal of tropical medicine : Medwell journal*
32. Noviana E. 2011. Uji potensi Ekstrak daun Sureni (Toona sureni) sebagai insektisida ulat grayak pada tanaman kedelai. Surakarta : Fakultas pertanian Universitas sebelas maret..
33. Hidayat Y dan Kuvaini A, 2005. Keefektifan ekstrak daun belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi L.) dalam pengendalian larva boktor (Xystrocera festiva Fascoe). *Agrikultura*. Agustus;16(2).
34. Datu T, Mita N RR. 2015. Aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap Psudomonas aeruginosa. Kalimantan : Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman..