

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Shigella dysenteriae***

SKRIPSI



Oleh :
Linda Eka Saputri
NIM 18040052

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Shigella dysenteriae***

SKRIPSI

Untuk memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh :
Linda Eka Saputri
NIM 18040052

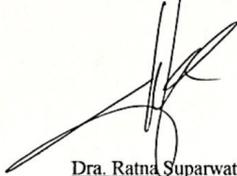
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah di periksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti
seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi Jember

Jember, 11 Januari 2023

Pembimbing I



Dra. Ratna Suparwati, M.Kes.
NIDN. 0707125301

Pembimbing II



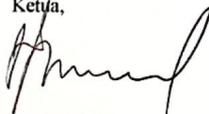
apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*” telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada :

Hari : Jum’at
Tanggal : 11 Januari 2023
Tempat : Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas dr. Soebandi Jember

Tim Penguji
Ketua,



Drs. Hendro Prasetyo, S.Kep., Ns., M.Kes.
NIDN. 4027035901

Pengujian I,



Dra. Ratna Sunarwati, M.Kes.
NIDN. 0707125301

Pengujian III,



apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.
NIDN. 0703028901

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



Hella Meldy Turfina, S.Kep., Ns., M.Kes.
NIDN.0706109104

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Linda Eka Saputri

NIM : 18040052

Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atau perbuatan tersebut.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 11 Januari 2023

Yang menyatakan



Linda Eka Saputri

NIM 18040052

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN
BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi L.*)
TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*
DAN *Shigella dysenteriae*

Oleh :

Linda Eka Saputri

NIM. 18040052

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Ratna Suparwati, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm.

LEMBAR PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan Skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tuaku dan keluarga besarku yang telah memberikan kasih sayang dan perjuangannya untuk menuntun saya hingga titik ini serta memberikan semangat dan doa yang terbaik untuk saya sehingga dapat menyelesaikan Pendidikan S1 Farmasi;
2. Bapak dan ibu guru TK Khodijah 175 Rogojampi, MI Islamiyah Rogojampi, SMPN 02 Rogojampi, SMA 17 Agustus 1945 Banyuwangi, serta dosen-dosen Prodi Farmasi Universitas dr. Soebandi, dan semua yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat;
3. Abdul Karim yang telah menuntun saya hingga titik ini serta memberikan semangat dan doa yang terbaik untuk saya sehingga dapat menyelesaikan Pendidikan S1 Farmasi;
4. Sahabat saya Yustika, Nurma dan Vivi yang selalu memberikan semangat dan support selama ini sekaligus tempat keluh kesah, serta menemani saya hingga berada titik ini;
5. Teman seperjuanganku Donna dan Laboran Akademi Farmasi Jember dalam mengerjakan penelitian Antibakteri;
6. Keluarga besar 18A Farmasi yang telah menemani saya selama menempuh pendidikan Farmasi di Universitas dr. Soebandi.

MOTTO

"Kita boleh saja kecewa dengan apa yang telah terjadi, tetapi jangan pernah kehilangan harapan untuk masa depan yang lebih baik."

(Bambang Pamungkas)

"Rahasia untuk maju adalah memulai."

(Mark Twain)

"Great things are not done by impulse, but by a series of small things brought together."

(Vincent van Gogh)

ABSTRAK

Saputri, Linda Eka*. Suparwati, Ratna**. Fauziah, Dina Triangguluh***.2022. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.** Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Di Indonesia, Penyakit Diare merupakan penyakit endemis yang berpotensi menimbulkan Kejadian Luar Biasa dan masih menjadi penyumbang angka kematian di Indonesia terutama pada balita. Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dapat menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan makanan seperti diare. Daun belimbing wuluh sering digunakan masyarakat sebagai alternatif obat tradisional seperti penyakit batuk, sakit gigi, dan diare. Kandungan tanin, flavonoid, dan saponin yang terdapat pada daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri yang umumnya menginfeksi saluran pencernaan yaitu *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Jenis penelitian ini eskperimental laboratorium dengan menggunakan serbuk simplisia daun belimbing wuluh yang diekstraksi dengan metode ekstraksi sokletasi dan perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian diskriming fitokimia. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 60%, 70%, 80%, kontrol positif menggunakan *ampicillin* dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, didapatkan rata-rata zona hambat pada setiap sampel terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu menggunakan metode sokletasi dengan konsentrasi 60% sebesar 2,70 mm, konsentrasi 70% sebesar 4,33 mm, konsentrasi 80% sebesar 5,06 mm, dan kontrol positif 5,96 mm. Untuk metode perkolasi dengan konsentrasi 60% sebesar 3,20 mm, konsentrasi 70% sebesar 4,33 mm, konsentrasi 80% sebesar 5,70 mm, dan kontrol positif 6,50 mm. Kemudian untuk setiap sampel terhadap bakteri *Shigella dysentriae* yaitu menggunakan metode sokletasi dengan konsentrasi 60% sebesar 1,80 mm, konsentrasi 70% sebesar 3,43 mm, konsentrasi 80% sebesar 4,16 mm, dan kontrol positif 5,73 mm. Untuk metode perkolasi dengan konsentrasi 60% sebesar 2,86 mm, konsentrasi 70% sebesar 3,66 mm, konsentrasi 80% sebesar 4,90 mm, dan kontrol positif 6,06 mm.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 60%, 70% dan 80% ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki aktivitas antibakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Kata kunci: Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), Sokletasi dan perkolasi, *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

* Peneliti

** Pembimbing 1

*** Pembimbing 2

ABSTRACT

Saputri, Linda Eka*. Suparwati, Ratna**. Fauziah, Dina Triangguluh***. 2022. **Antibacterial Activity Test of Starfruit Leaf Extract (*Averrhoa bilimbi* L.) Against *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* bacteria.** Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, University of dr. Soebandi.

In Indonesia, Diarrhea is an endemic disease that has the potential to cause Extraordinary Events and is still a contributor to mortality in Indonesia, especially in toddlers. *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* bacteria can cause foodborne illness such as diarrhea. Belimbing wuluh leaves are often used by the community as an alternative to traditional medicines such as coughs, toothaches and diarrhea. The content of tannins, flavonoids, and saponins found in starfruit leaves has antibacterial activity. This study aims to determine the activity of starfruit leaf extract against bacteria that generally infect the digestive tract, namely *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*.

This type of research was laboratory experimental using simple powder of belimbing wuluh leaves extracted by soxhletation and percolation extraction methods using 70% ethanol solvent and then phytochemical screening. Antibacterial activity testing was carried out using the disc diffusion method with concentrations of 60%, 70%, 80%, the positive control used ampicillin and the negative control used 10% DMSO.

Based on the results obtained, the average inhibition zone was obtained for each sample for *Escherichia coli* bacteria using the soxhletation method with a concentration of 60% of 2.70 mm, a concentration of 70% of 4.33 mm, a concentration of 80% of 5.06 mm, and positive control 5.96 mm. For the percolation method with a 60% concentration of 3.20 mm, a 70% concentration of 4.33 mm, an 80% concentration of 5.70 mm, and a positive control of 6.50 mm. Then for each sample of the *Shigella dysenteriae* bacteria, using the soxhletation method with a concentration of 60% of 1.80 mm, a concentration of 70% of 3.43 mm, a concentration of 80% of 4.16 mm, and a positive control of 5.73 mm. For the percolation method with a 60% concentration of 2.86 mm, a 70% concentration of 3.66 mm, an 80% concentration of 4.90 mm, and a positive control of 6.06 mm.

So it can be concluded that at concentrations of 60%, 70% and 80% ethanol extract of belimbing wuluh leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) has antibacterial activity and inhibits the growth of *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* bacteria.

Keywords: Leaves of starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.), Soxhletation and percolation, *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae*.

* Author

** Advisor 1

*** Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Studi Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*”.

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Drs. H. Said Mardijanto, S.Kep., Ns., MM. selaku Ketua Universitas dr. Soebandi
2. Helda Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kes. selaku Dekan Program Studi Farmasi Universitas dr. Soebandi
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi STIKES dr. Soebandi
4. Dra. Ratna Suparwati, M.Kes. selaku Pembimbing I dan Penguji I atas bimbingannya selama ini.
5. apt. Dina Trianggaluh Fauziah, M.Farm. selaku Pembimbing II dan Penguji II atas bimbingannya selama ini.
6. Drs. Hendro Prasetyo, S.Kep., Ns., M.Kes. Selaku Ketua Penguji atas segala masukan, kritik dan saran.

Dalam penyusunan Skripsi ini penulis menyadari masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan di masa mendatang.

Jember, 11 Januari 2023

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPEL.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	v
SKRIPSI.....	vi
LEMBAR PERSEMBAHAN	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Bagi Peneliti	5
1.4.2 Bagi Peneliti Lain.....	5
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	5
1.4.4 Bagi Institusi Pendidikan	6
1.5 Keaslian Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Uraian Tanaman	7
2.1.1 Habitat dan Morfologi.....	8
2.1.2 Kandungan Kimia	8
2.1.3 Manfaat	10
2.2 Ekstraksi	10
2.2.1 Macam Ekstraksi.....	11
2.3 Antibakteri.....	13
2.4 Uraian Bakteri.....	13
2.4.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	14
2.4.2 Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	16
2.5 Metode Pengujian Antibakteri	17
2.5.1 Metode Difusi.....	18
2.5.2 Metode Dilusi.....	18
2.5.3 Metode Bioautografi	19
BAB 3 KERANGKA KONSEP.....	20
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	20

3.2 Hipotesis Penelitian	20
BAB 4 METODE PENELITIAN	21
4.1 Desain Penelitian	21
4.2 Populasi dan Sampel	21
4.2.1 Populasi	21
4.2.2 Sampel	21
4.3 Variabel	22
4.3.1 Variabel Bebas	22
4.3.2 Variabel Terikat	22
4.3.3 Variabel Terkendali	22
4.4 Tempat Penelitian	22
4.5 Waktu Penelitian	22
4.6 Definisi Operasional	22
4.7 Teknik Pengumpulan Data	25
4.7.1 Alat dan Bahan	25
4.7.2 Pengumpulan Sampel	26
4.7.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Belimbing Wuluh	26
4.7.4 Identifikasi Simplisia	26
4.7.5 Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	27
4.7.6 Uji Skrining Fitokimia	28
4.7.7 Sterilisasi Alat Pengujian Aktivitas Antibakteri	28
4.7.8 Pembuatan dan Sterilisasi Media Uji	29
4.7.9 Pembuatan Konsentrasi Sampel, Kontrol Positif dan Negatif	29
4.7.10 Preparasi dan Uji Aktivitas Antibakteri	29
4.8 Teknik Analisa Data	31
4.8.1 Pengolahan Data	31
4.8.2 Analisa Data	31
BAB 5 HASIL PENELITIAN	32
5.1 Hasil Identifikasi Tanaman Daun Belimbing Wuluh	32
5.2 Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh	32
5.3 Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Belimbing Wuluh	33
5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	33
BAB 6 PEMBAHASAN	36
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	41
7.1 Kesimpulan	41
7.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
DAFTAR LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2. 1 Kandungan Kimia dalam Daun Belimbing wuluh.....	9
Tabel 3. 1 Kerangka Konsep.....	20
Tabel 4. 1 Definisi Operasional	23
Tabel 5. 1 Hasil Ekstrak Daun Belimbing Wuluh.....	32
Tabel 5. 2 Hasil Uji Skrining Fitokimia Belimbing Wuluh.....	33
Tabel 5. 3 Hasil Pengukuran Mc Farland dan Suspensi Bakteri.....	34
Tabel 5. 4 Hasil Zona Hambat Bakteri Escherichia coli.....	34
Tabel 5. 5 Hasil Zona Hambat Ekstrak Bakteri Shigella dysentriae.....	35

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Daun Belimbing Wuluh	7
Gambar 2. 2 Bakteri Escherichia coli	15
Gambar 2. 3 Bakteri Shigella dysenteriae.....	17

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kalender Pengerjaan Skripsi	47
Lampiran 2. Standar Operasional Prosedur Sokletasi	48
Lampiran 3. Standar Operasional Prosedur Perkolasi	50
Lampiran 4. Standar Operasional Prosedur Pengujian	52
Lampiran 5. Determinasi Tanaman.....	55
Lampiran 6. Penimbangan dan Perhitungan	56
Lampiran 7. Hasil Mc Farland dan Suspensi Bakteri	58
Lampiran 8. Dokumentasi	59
Lampiran 9. Hasil Uji Skrining Fitokimia	62
Lampiran 10. Pengukuran Zona Hambat	64
Lampiran 11. Riwayat Hidup.....	68

DAFTAR SINGKATAN

STX	: <i>sulfametazole-trimettoprim</i>
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
UV	: Ultraviolet
ATP	: Adenosine Triphosphate
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
KMB	: Konsentrasi Bunuh Minimum
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
NA	: Nutrient Agar
NB	: Nutrient Broth

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan sebagai pencegahan penyebaran penyakit dan infeksi, sebagai pembasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan perusakan bahan oleh mikroorganisme (Marfuah *et al.*, 2018). *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteria* adalah bakteri yang biasa digunakan sebagai bakteri target dalam penelitian antibakteri.

Bakteri *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk menginfeksi pada jaringan di luar usus seperti pada infeksi saluran kemih, sepsis dan meningitis. Bakteri *Escherichia coli* dapat ditularkan melalui makanan dan minuman yang sudah terkontaminasi dan masuk ke dalam tubuh dengan sistem kekebalan tubuh yang rendah. Seperti pada bayi, anak-anak dan lansia atau orang yang lagi sakit (Sari *et al.*, 2020). Bakteri *Escherichia coli* juga dapat menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan makanan seperti kolera, tifus, disentri, diare dan penyakit cacing (Irawan *et al.*, 2022).

Shigella dysenteriae adalah bakteri kelompok gram negatif dan bersifat fakultatif anaerobik yang dapat hidup dalam usus manusia dan termasuk flora normal. Bakteri ini dapat menyebabkan shigellosis pada manusia. Shigellosis disebut juga disentri basiler. Kombinasi diare yang disebabkan oleh *Shigella dysenteriae* yaitu tinja teksturnya lembek dan berdarah, diare teksturnya cair dan kombinasi tekstur lembek berdarah dan cair (Shrotriya, 2015).

Di Indonesia, Penyakit Diare merupakan penyakit endemis yang berpotensi menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB) dan masih menjadi penyumbang angka kematian di Indonesia terutama pada balita. Kelompok umur dengan prevalensi diare (berdasarkan diagnosis tenaga Kesehatan) tertinggi yaitu pada kelompok umur 29 hari – 11 bulan. Diare masih menjadi penyebab kematian terbanyak yaitu sebesar 14,5% kematian (Kemenkes RI, 2021).

Proses pengobatan penyakit diare yang disebabkan oleh bakteri dapat diobati menggunakan antibiotik. Antibiotik yang sering digunakan merupakan antibiotik sintetik seperti *sulfametaxazole-trimettoprim* (STX), tetrasiklin, dan *ampicillin*. Namun, antibiotik sintetik yang digunakan sudah mengalami resistensi. Angka resistensi tertinggi pada antibiotik *sulfametaxazole-trimettoprim* (STX) sebesar (80,8%), tetrasiklin sebesar (60,18%), dan *ampicillin* sebesar (54,5%). Hal ini terjadi diakibatkan karena pemakaian antibiotik yang kurang tepat dan disertai dengan dosis yang terlalu tinggi, sehingga dapat menyebabkan resistensi pada bakteri. Resistensi pada bakteri dapat mengakibatkan bakteri sulit untuk dihambat atau dibunuh, sehingga angka kematian pada pasien diare semakin meningkat (Sari *et al.*, 2020). Oleh karena itu, diperlukan antibiotik alami yang dapat mengatasi permasalahan tersebut, salah satunya dengan cara memanfaatkan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

Berdasarkan penelitian Agastia *et al* (2021) daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas sebagai antibakteri *Escherichia coli* terdapat pada konsentrasi 50% dengan zona hambat 10 mm. Dan pada penelitian Panjaitan (2017) telah terbukti ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh memiliki aktivitas daya hambat

terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteria* ketika diberi konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 100% tidak dijumpai adanya pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dalam media.

Belimbing wuluh (*Avverhoa bilimbi L.*) adalah tanaman yang sering digunakan masyarakat sebagai alternatif obat tradisional. Tanaman ini juga banyak dimanfaatkan masyarakat untuk mengatasi berbagai penyakit misalnya sakit gigi, batuk, jerawat dan diare. Belimbing wuluh memiliki batang yang kasar berbenjol-benjol, bercabang sedikit, arahnya condong keatas. Cabang muda berambut halus seperti beludru, berwarna coklat muda. Pada setiap daun belimbing wuluh terdapat 13-45 pasang daun majemuk. Dan memiliki bunga kecil yang muncul langsung dari batang dengan tangkai bunga yang berbulu, mahkota bunganya berjumlah lima, berwarna agak keunguan. Tanaman belimbing wuluh juga mengandung berbagai senyawa, terutama pada daunnya (Agastia *et al.*, 2021). Hampir seluruh bagian dari tanaman belimbing wuluh dapat dimanfaatkan, salah satunya adalah bagian daun (Pendit, 2015).

Daun belimbing wuluh memiliki beberapa kandungan seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, dan kalium sitrat. Daun belimbing wuluh juga dapat dimanfaatkan sebagai obat rematik, stroke, obat batuk, anti radang, analgesik, anti hipertensi, dan anti diabetes. Tanin, flavonoid, dan saponin yang terdapat pada daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Febrianti *et al.*, 2019).

Uji sensitivitas pada bakteri terhadap suatu antibiotik dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti : difusi cakram (diffusion test), pengenceran atau dilusi

(dilusi test), antimicrobial gradient dan short automated instrumen system. Uji sensitivitas terhadap bakteri dengan cara difusi merupakan cara yang paling banyak digunakan karena teknis pemeriksaan lebih mudah untuk dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan penentuan aktivitas antibakteri dengan metode disc diffusion (cakram disk) (Khusuma *et al.*, 2019).

Oleh karena itu dilakukannya penelitian ini untuk mengatasi permasalahan tersebut, salah satunya dengan cara memanfaatkan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai antibakteri alami terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai aktivitas sebagai antibakteri ?
2. Pada konsentrasi berapa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memberikan aktivitas sebagai antibakteri dengan menggunakan metode cakram ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* menggunakan metode difusi cakram.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun belimbing wuluh dengan metode sokletasi dan perkolasi.
2. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur pada konsentrasi berapa ekstrak daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bermanfaat mengenai perkembangan ilmu kesehatan yang dapat digunakan sebagai obat alternatif dengan efek samping yang lebih minimum dan pengganti obat kimia.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi sebagai dasar bahan pertimbangan dan referensi tambahan untuk penelitian selanjutnya untuk pencarian antibakteri dari bahan alam.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan mengenai tanaman tradisional dan kegunaan daun belimbing wuluh di bidang kesehatan yang dapat digunakan sebagai obat alternatif dengan efek samping yang lebih minimum dan pengganti obat kimia untuk penyakit diare.

1.4.4 Bagi Institusi Pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan bahan alam bagi ilmu kefarmasian mengenai aktivitas antibakteri serta menjadi bahan referensi bagi mahasiswa lain.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian Penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Agastia, 2021	<ul style="list-style-type: none"> a. Menggunakan sampel daun belimbing wuluh b. Menggunakan uji metode cakram c. Menggunakan bakteri <i>Escherichia coli</i> 	<ul style="list-style-type: none"> a. Menggunakan pelarut etanol 96% b. Menggunakan metode maserasi c. Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (10%, 20%, 30%, 40% dan 50%)
Febrianti, 2019	<ul style="list-style-type: none"> a. Menggunakan pelarut etanol 70% 	<ul style="list-style-type: none"> a. Menggunakan metode sumuran b. Menggunakan metode maserasi c. Menggunakan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> d. Menggunakan sampel kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh dengan amoksisilin e. Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 100 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL kombinasi amoksisilin 1%, 50 mg/mL kombinasi Amoksisilin 1%
Hasanah & Novian, 2020	<ul style="list-style-type: none"> a. Menggunakan sampel daun belimbing wuluh b. Menggunakan uji metode cakram 	<ul style="list-style-type: none"> a. Menggunakan metode maserasi b. Menggunakan bakteri <i>Propionibacterium acnes</i> c. Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (1,25%, 2,5%, 5%, dan 10%)

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tanaman

Di negara filiphina ekstrak dari daun belimbing wuluh di gunakan sebagai obat pereda rheumatik, penyakit kulit dan gondok. Di negara malaysia, daun fermentasi segar dari tanaman ini digunakan untuk mengobati penyakit seksual yang menular. Daun belimbing wuluh di Indonesia sendiri digunakan untuk pengobatan penyakit luka, penurunan panas, gondok, rheumatik, sakit perut dan diabetes. (Parikesit, 2017).



Gambar 2. 1 Daun Belimbing Wuluh (Sumber : Dokumen Pribadi, 2021)

Klasifikasi Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menurut Suryaningsih (2016) :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Oxalidales
Family : Oxalidaceae
Genus : Averrhoa
Spesies : *Averrhoa Bilimbi* L.

2.1.1 Habitat dan Morfologi

Belimbing wuluh atau belimbing sayur dapat hidup pada ketinggian 5- 500 m di atas permukaan laut, yang kadang tumbuh liar atau ditanam sebagai pohon buah. Pohon ini tumbuh di tempat yang terkena cahaya matahari langsung dan cukup lembab. Pohon belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mampu hidup dan tumbuh subur di berbagai iklim di lingkungan tropis dan subtropis. Pohon yang berasal dari Amerika tropis ini dapat tempat tumbuh ditempat yang terkena cahaya matahari langsung dan cukup lembab. Pohonnya tergolong kecil, tinggi mencapai 10 m dan mempunyai garis tengah sekitar 30 cm. Bunganya kecil-kecil berbentuk bintang, warnanya ungu kemerahan. Buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi, panjang 4-6,5 cm, warnanya hijau kekuningan, bila masak berair banyak dan rasanya masam. Bijinya berbentuk bulat telur. Daunnya majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau, permukaan bawah warnanya lebih muda (Syah dan Purwani, 2016).

2.1.2 Kandungan Kimia

Ekstrak dari daun belimbing wuluh diantaranya terdapat triterpenoid, saponin, tanin, flavonoid, alkaloid dan fenol. Diketahui juga bahwa pada ekstrak etanol dari daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas antioksidan (Hasanuzzaman *et al*, 2019).

Tabel 2. 1 Kandungan Kimia dalam Daun Belimbing wuluh

Kandungan	Komponen %
Saponin	10,0
Tanin	6,0
Glukosida	14,5
Kalium Oksalat	17,5
Sulfur	2,5
Asam Format	2,0
Peroksidase	1,0

Sumber : Kristianto *et al* (2014)

Tanin, flavonoid, dan saponin yang terdapat pada daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Febrianti *et al.*, 2019).

Mekanisme kerja senyawa saponin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghilangkan enzim dan protein pada sel bakteri. Zat aktif permukaan pada saponin mampu merusak permeabilitas membrane dan menurunkan tegangan pada permukaan dinding bakteri sehingga menjadi antibakteri karena hampir sama dengan kinerja detergen. Pada membran luar dinding sel saponin berdifusi sehingga sangat rentan hingga mengganggu dan mengurangi kestabilan pada dinding sel dan sitoplasmanya terikat. Hal tersebut akan mengakibatkan bocornya sitoplasma hingga keluar dari dalam sel dan mampu menyebabkan kematian pada sel. Hal ini biasa disebut bakterisida yaitu mengganggu sitoplasma yang menyebabkan kematian sel (Aini, 2019).

Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan dan antidiabetes yang memiliki mekanisme kerja menghambat pertumbuhan bakteri seperti bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan cara denaturasi protein sehingga pertumbuhan bakteri dapat terganggu (Raditya, 2015).

Tannin merupakan zat organik tanaman yang klarut dalam air yang merupakan senyawa poliferol yang dapat mengendapkan protein dan membentuk kompleks.

Mekanisme kerja tannin adalah membentuk kompleks protein pada dinding sel sehingga terjadi gangguan pada saat pembentukan struktur tubuh bakteri yang menyebabkan bakteri lisis (Sujatmiko, 2014).

2.1.3 Manfaat

Manfaat daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) adalah sebagai antibakteri. Daun belimbing wuluh dapat dimanfaatkan sebagai obat rematik, stroke, obat batuk, anti radang, analgesik, anti hipertensi, anti diabetes. Daun belimbing wuluh dipercaya oleh masyarakat dapat juga untuk menyembuhkan luka (Febrianti *et al.*, 2019).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut. Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan masa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel yang selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses ini terus berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif antara di dalam sel dengan konsentrasi di luar sel. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri. Sampel yang akan diekstraksi dapat berbentuk sampel segar atau sampel yang telah dikeringkan. Sampel yang umum digunakan adalah sampel segar karena penetrasi pelarut akan berlangsung

lebih cepat. Selain itu penggunaan sampel segar dapat mengurangi kemungkinan terbentuknya polimer resin atau artefak lain yang dapat terbentuk selama proses pengeringan. Penggunaan sampel kering juga memiliki kelebihan yaitu dapat mengurangi kadar air yang terdapat di dalam sampel, sehingga dapat mencegah kemungkinan rusaknya senyawa akibat aktivitas anti mikroba (Marjoni, 2016).

2.2.1 Macam Ekstraksi

a. Ekstraksi secara dingin

Metode ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat di dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas atau bersifat termolabil. Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut ini:

1. Maserasi proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya (Marjoni, 2016).
2. Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu (Marjoni, 2016).

b. Ekstraksi secara panas

Metode panas digunakan apabila senyawa-senyawa yang terkandung dalam simplisia sudah dipastikan tahan panas. Metode ekstraksi yang membutuhkan panas di antaranya:

1. Infusa merupakan sediaan cair yang di buat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Kecuali dinyatakan lain, infusa dilakukan dengan cara sebagai berikut: Simplisia dengan derajat kehalusan tertentu dimasukkan kedalam panci infusa, kemudian ditambahkan air secukupnya. Panaskan campuran di atas penangas air selama 15 menit, dihitung mulai suhu 90°C sambil sesekali diaduk. Serkai selagi masih panas menggunakan kain flannel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki (Marjoni, 2016).
2. Digestasi adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digesti menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30–40°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa (Marjoni, 2016).
3. Dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah suhu mencapai 90°C. Metode ini sudah sangat jarang digunakan karena selain proses penyariannya yang kurang sempurna dan juga tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil (Marjoni, 2016).
4. Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan

adanya pendingin balik (Kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna (Marjoni, 2016).

5. Sokletasi merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soxhlet. Suhu yang di gunakan lebih rendah dibandingkan dengan suhu pada metode refluks (Marjoni, 2016).

2.3 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme bakteri. Antibakteri hanya dapat digunakan jika mempunyai sifat toksik selektif, artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi penderitanya. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas zat antibakteri adalah pH, suhu stabilitas senyawa, jumlah bahan yang ada, lamanya inkubasi di aktivitas metabolisme bakteri. Komponen antibakteri adalah komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri. Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan (Triwati, 2014).

2.4 Uraian Bakteri

Bakteri merupakan sekelompok besar mikroorganisme sel tunggal. Beberapa menyebabkan infeksi dan penyakit pada hewan dan manusia, bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk

DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoid. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas ekson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler (Hutagaol dan Fernandez, 2017).

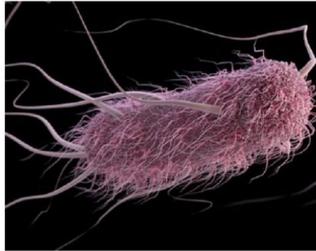
Bakteri adalah salah satu golongan mikroorganisme prokariotik (bersel tunggal) yang hidup berkoloni dan tidak mempunyai selubung inti namun mampu hidup dimana saja. Menurut klasifikasinya bakteri dibagi menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Beberapa bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif merupakan flora normal pada tubuh manusia (Apri Arisandi *et al.*, 2017).

Bakteri gram negatif yaitu memiliki struktur dinding sel berlapis tiga dengan ketebalan 10-15 μ m. Komposisi dinding sel terdiri atas lipid dan peptidoglikan. Kandungan lipid pada bakteri Gram negatif cukup tinggi yaitu 11-22%. Bakteri ini umumnya kurang rentan terhadap penisilin dan gangguan fisik. Bakteri Gram negatif lebih sensitif terhadap antibiotik lainnya seperti streptomisin dan bersifat lebih konstan terhadap reaksi pewarnaan. Selain itu, dinding sel bakteri Gram negatif lebih tipis dari pada bakteri Gram positif (Ginting, 2018).

2.4.1 Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* ditemukan oleh Theodor Escherich pada tahun 1885 nama yang digunakan sesuai dengan nama penemunya. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang rentang hidup pada suhu 20-40°C yang suhu optimumnya sekitar 37°C. Bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang memiliki panjang sekitar 2 micrometer dan berdiameter 0,5 micrometer. Sel *Escherichia*

coli bervolume kisaran 0,6-0,7 m³. Dalam proses pendinginan dan pembekuan bakteri *Escherichia coli* tidak bisa dibunuh hanya bisa dibunuh dengan antibiotik, sinar Ultraviolet (UV), atau suhu lebih tinggi dari 100°C. Suhu tinggi dapat merusak protein dalam sel dan membuatnya tidak bisa hidup kembali (Sutiknowati, 2016).



Gambar 2. 2 Bakteri *Escherichia coli* (CDC, 2015)

Menurut Sutiknowati (2016), taksonomi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :

Domain : Bacteria
 Kingdom : Eubacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Class : Gammaproteobacteria
 Ordo : Enterobacteriales
 Family : Enterobacteriaceae
 Genus : Eschericia
 Spesies : *Escherichia coli*

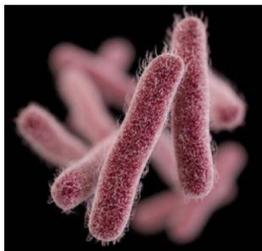
Escherichia coli bersifat fakultif anaerob, dimana apabila tersedia O₂ memproduksi ATP melalui respirasi dan apabila tidak tersedia O₂ *Escherichia coli*

dapat hidup dengan berbagai jenis substrat, dan apabila kondisi anaerob menggunakannya untuk fermentasi (*mixed-acid fermentation*) menghasilkan laktat, suksinat, etanol asetat, CO₂. Pertumbuhan *Escherichia coli* optimum pada suhu 37°C, tetapi pada beberapa strain dapat melakukan multiplikasi pada suhu 49°C. *Escherichia coli* mampu melakukan transfer DNA melalui konjugasi bakterial atau transduksi, sehingga mampu menyebarkan material genetik secara horizontal dalam suatu populasi (Murwani *et al*, 2017).

2.4.2 Bakteri *Shigella dysenteriae*

Shigella adalah binatang tidak bergerak, gram negatif, bersifat fakultatif anaerobik yang dengan beberapa kekecualian tidak meragikan laktosa tetapi meragikan karbohidrat yang lainnya, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Habitat alamiah *Shigella* terbatas pada saluran pencernaan manusia dan primata lainnya dimana sejumlah spesies menimbulkan disentri basiler (Kurniasih, 2014). Klasifikasi :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gamma Proteobacteria
Order : Enterobacteriales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Shigella*
Species : *Shigella dysenteriae*



Gambar 2. 3 Bakteri *Shigella dysenteriae* (CDC, 2015)

Shigella adalah fakultatif anaerob tetapi paling baik tumbuh secara aerobik. Koloninya konveks, bulat, transparan dengan pinggir-pinggir utuh mencapai diameter kira-kira 2mm dalam 24 jam. Kuman ini sering ditemukan pada perbenihan diferensial karena ketidakmampuannya meragikan laktosa (Shrotriya, 2015).

2.5 Metode Pengujian Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak dan untuk mengetahui tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri atau teknik untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (dilusi). Disc diffusion test atau uji difusi cakram dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam ekstrak. Sedangkan metode dilusi atau pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi,

kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair (Ginting, 2018).

Metode pengujian yang sering digunakan untuk mendeteksi aktivitas antibakteri produk alam dibagi menjadi 3 kelompok yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Sedangkan metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (Niswah, 2014).

2.5.1 Metode Difusi

Metode difusi dibagi lagi menjadi tiga, yaitu difusi cakram, difusi silinder dan hole plate. Dalam prosedur cakram, kertas cakram (berdiameter +6 mm) yang mengandung senyawa uji ditempatkan pada permukaan agar yang sebelumnya diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Senyawa uji berdifusi ke medium Agar menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme. Cawan petri diletakkan pada suhu kamar sebelum inkubasi, kemudian zona hambat diukur. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan secara visual, karena konsentrasi senyawa uji terendah, yang dapat menyebabkan zona hambat pertumbuhan dapat dikenali. Namun, metode difusi kurang cocok untuk menentukan nilai KHM dari pada dilusi, karena tidak mungkin mengukur jumlah senyawa uji yang berdifusi ke dalam medium agar (Niswah, 2014).

2.5.2 Metode Dilusi

Pada metode dilusi agar, medium diinokulasi dengan organisme uji dan sampel yang diuji dicampur dengan inokulum. Material yang diinokulasi dan

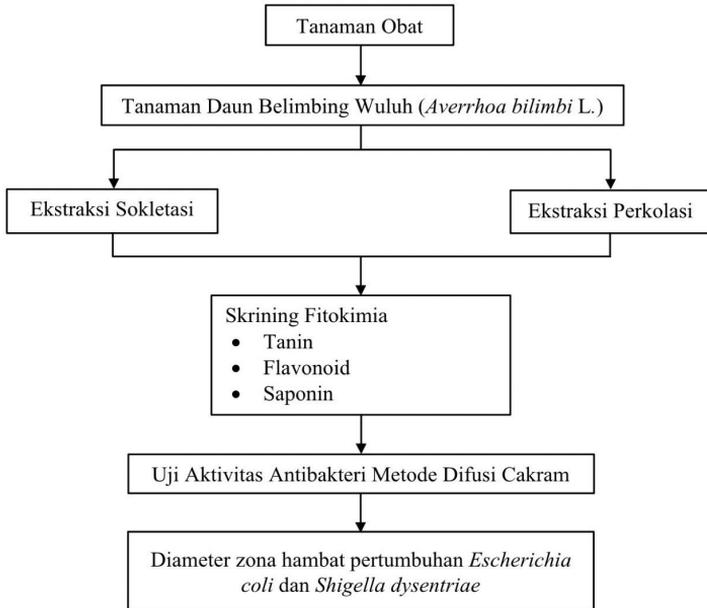
pertumbuhan mikroorganisme dapat terlihat dan dibandingkan dengan kultur kontrol yang tidak mengandung sampel uji. Pengujian diulang dengan variasi dilusi sampel uji dalam medium kultur dan menentukan dilusi yang paling tinggi dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme sampel. Dalam tabung uji, berbagai konsentrasi senyawa uji dicampur dengan suspensi bakteri pada beberapa tabung, konsentrasi terendah menyebabkan penghambatan pertumbuhan mikroorganisme sesuai dengan nilai KHM. Pada uji mikrodilusi cair, mikroorganisme yang tumbuh di sumur plat, dimana berbagai konsentrasi senyawa uji ditambahkan. Pertumbuhan mikroorganisme ditunjukkan oleh adanya kekeruhan dalam sumur (Niswah, 2014).

2.5.3 Metode Bioautografi

Prosedur dalam metode bioautografi mirip dengan yang digunakan dalam metode difusi agar. Perbedaannya adalah bahwa senyawa uji berdifusi dari kertas kromatografi ke media agar yang diinokulasi. Metode bioautografi dibagi lagi menjadi bioautografi kontak, imersi dan langsung (Niswah, 2014).

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Tabel 3. 1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis merupakan jawaban terhadap masalah yang menjadi objek dalam penelitian. Berdasarkan kerangka konseptual diatas, maka yang menjadi hipotesisnya adalah terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan penelitian eksperimental di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Jember dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi adalah seluruh kumpulan elemen yang memiliki sejumlah karakteristik umum, yang terdiri dari bidang-bidang untuk diteliti (Amirullah, 2015).

Populasi dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diperoleh dari Desa Lemahbangdewo Kecamatan Rogojampi Kabupaten Banyuwangi.

4.2.2 Sampel

Sampel adalah sub kelompok dari populasi yang dipilih untuk digunakan dalam penelitian (Amirullah, 2015).

Sampel penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi.

4.3 Variabel

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak 60%, 70% dan 80%.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat pada pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

4.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah cara pengujian aktivitas antibakteri, cara ekstraksi serbuk simplisia, konsentrasi ekstrak, waktu inkubasi, suhu, dan pelarut.

4.4 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Jember.

4.5 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2022.

4.6 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Ekstrak etanol daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	Ekstrak etanol daun belimbing wuluh adalah sediaan yang dibuat dengan mengekstraksi daun belimbing wuluh dengan metode sokletasi dan perkolasi menggunakan pelarut etanol 70% lalu diuapkan	Mengukur rendemen	% Neraca analitik	Rasio (mg)	Ekstrak kental etanol 70% daun belimbing wuluh
Aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Shigella dysentriae</i> .	Aktivitas antibakteri adalah kemampuan ekstrak etanol daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Shigella dysentriae</i>	Mengukur area jernih disekitar piringan	Jangka sorong	Rasio (mm)	Terbentuknya daerah hambat di sekitar <i>paper disc</i>
Independent/Bebas					
Konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) 60%	Konsentrasi merupakan variasi komposisi dari ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut etanol 70% yang diekstraksi dengan metode sokletasi dan perkolasi. Seri konsentrasi dibuat dengan mengencerkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh menggunakan pelarut etanol 70%	Pembuatan variasi variasi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang sudah ditimbang dengan etanol 70% berdasarkan perbandingan pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol dan ekstrak	Neraca analitik	Rasio (mg)	Ekstrak kental etanol 70% daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 60%
Konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) 70%	Konsentrasi merupakan variasi komposisi dari ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut etanol 70% yang diekstraksi dengan metode	Pembuatan variasi variasi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang sudah ditimbang dengan etanol	Neraca analitik	Rasio (mg)	Ekstrak kental etanol 70% daun belimbing wuluh dengan konsentrasi

	sokletasi dan perkolasi. konsentrasi dengan mengencerkan ekstrak belimbing menggunakan etanol 70%	dan Seri dibuat cara etanol daun wuluh pelarut	70% berdasarkan perbandingan variasi konsentrasi antara pelarut dan ekstrak			si 70%
Konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) 80%	Konsentrasi merupakan komposisi ekstrak belimbing dengan pelarut 70% yang diekstraksi dengan metode sokletasi dan perkolasi. Seri konsentrasi dengan mengencerkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh menggunakan pelarut etanol 70%	variasi dari ekstrak wuluh etanol	Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang sudah ditimbang dengan etanol 70% berdasarkan perbandingan pembuatan variasi konsentrasi antara pelarut dan ekstrak	Neraca analitik	Rasio (mg)	Ekstrak kental etanol 70% daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 80%
Dependent/Terikat						
Aktivitas antibakteri <i>Escherichia coli</i>	Aktivitas ekstrak belimbing terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> yang diukur diameter zona hambatnya	antibakteri etanol daun wuluh bakteri	Mengukur area jernih disekitar piringan	Jangka sorong	Rasio (mm)	Terbentuknya daerah hambat di sekitar <i>paper disc</i>
Aktivitas antibakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	Aktivitas ekstrak belimbing terhadap bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> yang diukur diameter zona hambatnya	antibakteri etanol daun wuluh bakteri	Mengukur area jernih disekitar piringan	Jangka sorong	Rasio (mm)	Terbentuknya daerah hambat di sekitar <i>paper disc</i>

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Tanin	Senyawa metabolit sekunder yang merupakan suatu senyawa polifenol yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil	Penambahan 1-2 tetes larutan FeCl ₃ 1%	Lembar observasi	Nominal "1" = Positif (+) "2" = Negatif (-)	Perubahan warna menjadi warna hijau kehitaman
Flavonoid	Salah satu golongan senyawa fenol alam yang terbesar dalam tanaman dan tersusun dari konfigurasi C6-C3-C6	Penambahan serbuk Mg dan 3 tetes HCl	Lembar observasi	Nominal "1" = Positif (+) "2" = Negatif (-)	Perubahan warna menjadi merah
Saponin	Senyawa metabolit sekunder yang dapat membentuk busa pada larutan cair dan memiliki rasa yang pahit	Penambahan air panas kemudian didinginkan, lalu dikocok selama 10 detik	Lembar observasi	Nominal "1" = Positif (+) "2" = Negatif (-)	Terbentuknya buih

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain soxhletator, perkolator, neraca analitik, *rotary evaporator*, tabung reaksi, rak tabung, cawan petridist, mikropipet, pipet volume, kawat ose, gelas ukur, kertas saring, autoclave, jangka sorong, inkubator, kamera digital, oven, blender, lampu pijar, kertas cakram, kertas saring, kertas coklat, LAF, cawan porselin, batang L, aluminium foil, beaker glass, pipet tetes, bunsen, erlenmeyer, hot plate stirer.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), etanol 70%, aquadest, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), FeCl₃, serbuk Mg, HCL, BaCl₂, H₂SO₄, NaCl, DMSO, *ampicillin*, kultur bakteri *Escherichia coli*, kultur bakteri *Shigella dysentriae*.

4.7.2 Pengumpulan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan tumbuhan dari daerah lain. Sampel yang diambil yaitu daun yang sudah tua, sampel yang digunakan diambil dari Desa Lemahbangdewo Kecamatan Rogojampi Kabupaten Banyuwangi.

4.7.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Belimbing Wuluh

Daun belimbing wuluh dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran. Daun belimbing wuluh yang sudah bersih kemudian dikeringkan dengan cara penjemuran kurang lebih 3 hari. Daun belimbing wuluh yang sudah kering diserbuk dengan alat penyerbuk. Proses penyerbukan simplisia daun belimbing wuluh dilakukan dengan menggunakan alat blender sampai halus.

4.7.4 Identifikasi Simplisia

Determinasi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dilakukan dengan menunjukkan tanaman daun belimbing wuluh meliputi daun dan batang kemudian menetapkan kebenarannya sesuai ciri-ciri morfologinya. Determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember.

4.7.5 Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Akademi Farmasi dengan metode sokletasi dan perkolasi. Adapun langkah kerjanya sebagai berikut :

a. Sokletasi

Proses ekstrak secara panas menggunakan alat khusus berupa ekstraktor soklet. Sampel daun belimbing wuluh yang sudah halus sebanyak 200,12 gram lalu dibungkus dengan kertas saring, ikat dengan benang dimasukkan kedalam tabung soklet. Tambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL, lakukan ekstraksi pada suhu 50°C sampai cairan tidak berwarna lagi. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Metode sokletasi yaitu menggunakan bahan baku dan pelarut dengan rasio 1:5.

b. Perkolasi

Ditimbang sampel daun belimbing wuluh yang sudah halus sebanyak 200,12 gram masukkan ke dalam perkolator. Kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL hingga terendam tunggu selama 24 jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental. Metode perkolasi yaitu menggunakan bahan baku dan pelarut dengan rasio 1:5.

4.7.6 Uji Skrining Fitokimia

a. Uji Tanin

Sebanyak 1 gram sampel dididihkan selama 3 menit dalam 10 mL air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl_3 . Jika terjadi perubahan warna menjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

b. Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan air panas dan dikocok kuat. Jika terbentuknya buih menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara ditimbang ekstrak sebanyak 1 gram kemudian diencerkan dan disaring lalu ditambahkan serbuk Mg 0,1 gram. Selanjutnya ditambahkan HCl pekat sebanyak 3 tetes. Uji flavonoid dikatakan positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah.

4.7.7 Sterilisasi Alat Pengujian Aktivitas Antibakteri

Sebelum dilakukannya pembuatan media dan pengujian aktivitas antibakteri, semua alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Untuk alat-alat non gelas disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C . dan untuk alat-alat gelas disterilkan menggunakan oven selama 1 jam dengan suhu $160-170^\circ\text{C}$. Untuk kawat ose dan pinset menggunakan api bunsen.

4.7.8 Pembuatan dan Sterilisasi Media Uji

Media uji yang digunakan ialah media *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB). Untuk pembuatan media NA dengan cara media diambil kemudian ditimbang sebanyak 7 gram kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan tambahkan 250 mL aquadest. Untuk pembuatan media NB dengan cara media diambil kemudian ditimbang sebanyak 0,32 gram kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan tambahkan 25 mL aquadest. Media dipanaskan diatas *hot plate* sampai bahan terlarut sempurna. Selanjutnya media disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Media yang telah steril dituang pada cawan petri yang telah steril.

4.7.9 Pembuatan Konsentrasi Sampel, Kontrol Positif dan Negatif

Konsentrasi yang digunakan pada sampel ini ialah 60%, 70% dan 80%. Untuk pembuatan konsentrasi 60%, 70% dan 80% dengan cara timbang ekstrak sebanyak 3 gram, 3,5 gram, dan 4 gram ke dalam 5 mL DMSO. Pembuatan kontrol negatif menggunakan DMSO 10% dengan cara 10 mL DMSO dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan aquades sampai volume 100 mL. Pembuatan kontrol positif menggunakan antibiotik *ampicillin* dengan cara memasukkan 0,5 mg dilarutkan dalam DMSO 5 mL.

4.7.10 Preparasi dan Uji Aktivitas Antibakteri

Preparasi uji bakteri dilakukan meliputi peremajaan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysentriae* yang dilakukan dengan masing-masing diambil satu ose kemudian diinokulasi dengan cara digoreskan pada media *Nutrient Agar* miring. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diambil satu ose

koloni dari media NA ke dalam media NB lalu divortek agar homogen. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika media keruh maka ada pertumbuhan bakteri.

Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* dengan cara ambil 1 mL lalu masukkan ke tabung reaksi yang sudah berisi 10 mL NaCl 0,9% kemudian divortek agar homogen. Sebelum pengujian uji antibakteri dilakukan pengujian kekeruhan pada suspensi dengan standart *Mc Farland*. Densitas standar *Mc Farland* diperiksa dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 625 nm pada rentang 0,08-0,13 (Dalynn, 2014).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara menuangkan media ke cawan petri lalu tunggu hingga memadat. Kemudian diambil 100 µL suspensi bakteri masing-masing masukkan ke media yang sudah padat. Setelah itu mencelupkan paper disk ke dalam DMSO 10% untuk kontrol negatif. Untuk kontrol positif dicelupkan ke dalam antibiotik *ampicillin* dan untuk kontrol perlakuan dicelupkan ke dalam ekstrak daun belimbing wuluh dengan berbagai konsentrasi. Setelah dicelupkan diletakkan di atas media NA yang telah di inokulasi bakteri uji lalu diberi tanda. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Aktivitas ditentukan dengan berdasarkan adanya zona bening pada area paper disk. Masing-masing uji aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

4.8 Teknik Analisa Data

4.8.1 Pengolahan Data

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung diameter zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yang diukur dengan satuan mm. Zona hambat adalah zona bening sekitar area paper disk yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* yang diukur menggunakan jangka sorong.

4.8.2 Analisa Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini berupa rerata diameter zona hambat dengan menggunakan metode difusi cakram terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* sehingga analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis deskriptif. Teknik deskriptif merupakan Teknik penggambaran atau mendeskripsikan hasil penelitian menggunakan kalimat informatif.

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Identifikasi Tanaman Daun Belimbing Wuluh

Determinasi dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah daun belimbing wuluh seperti yang tertuang pada surat identifikasi pada lampiran 1.

5.2 Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi terhadap daun belimbing wuluh secara sokletasi dan perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%. Proses ekstraksi sokletasi dilakukan sampai tetesan siklus tidak berwarna lagi kemudian dipekatkan untuk mendapatkan ekstrak kental. Proses ekstraksi perkolasi dilakukan selama empat hari dengan pengulangan pelarut setiap 24 jam kemudian dipekatkan hingga mendapatkan ekstrak kental. Hasil sokletasi dan perkolasi daun belimbing wuluh dapat dilihat pada tabel 5.1 dan perhitungan rendemen ekstrak daun belimbing wuluh dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 5. 1 Hasil Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Replikasi	Metode Ekstraksi	Ekstrak Kental (gram) \pm SD	Rendemen (%)
1	Sokletasi	23,66 \pm 0,63	11,82
	Perkolasi	15,39 \pm 0,60	7,69
2	Sokletasi	22,43 \pm 0,63	11,20
	Perkolasi	14,64 \pm 0,60	7,31
3	Sokletasi	23,35 \pm 0,63	11,66
	Perkolasi	14,22 \pm 0,60	7,10

5.3 Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Belimbing Wuluh

Pada penelitian ini dilakukan uji skrining fitokimia guna mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun belimbing wuluh. Hasil uji menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh mengandung senyawa tanin, flavonoid, dan saponin. Hasil uji skrining fitokimia daun belimbing wuluh dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. 2 Hasil Uji Skrining Fitokimia Belimbing Wuluh

Golongan Senyawa	Pereaksi	Pengamatan	Hasil	
			Sokletasi	Perkolasi
Tanin	FeCl ₃	Hijau kehitaman	(+) Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman	(+) Terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman
Flavonoid	Serbuk Mg+HCL pekat	Berubah warna menjadi merah	(+) Terjadi perubahan warna menjadi merah	(+) Terjadi perubahan warna menjadi merah
Saponin	Air panas dan kocok kuat	Terdapat buih	(+) Terbentuk buih	(+) Terbentuk buih

Keterangan:

(+) : Hasil Positif

(-) : Hasil Negatif

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri dilakukan guna mengetahui apakah daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Uji antibakteri memerlukan standar Mc Farland untuk mengetahui konsentrasi bakteri pada saat pengujian. Standar 1/2 Mc Farland mendapatkan hasil absorbansi menggunakan spektrofotometer dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. 3 Hasil Pengukuran Mc Farland dan Suspensi Bakteri

Larutan	Absorbansi
Mc Farland	0,088
Suspensi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	0,099
Suspensi Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>	0,089

Uji antibakteri pada penelitian ini menggunakan tiga konsentrasi, dibandingkan dengan kontrol positif dan kontrol negatif. Konsentrasi yang digunakan yaitu ekstrak daun belimbing wuluh 60%, 70%, dan 80%, sedangkan kontrol positif yaitu *ampicillin* dan kontrol negatif yaitu DMSO. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Hasil data diameter zona bening ekstrak daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* pada tabel 5.4.

Tabel 5. 4 Hasil Zona Hambat Bakteri *Escherichia coli*

Replikasi	Diameter Zona Bening Bakteri <i>Escherichia coli</i>									
	Sokletasi					Perkolasi				
	60%	70%	80%	K+	K-	60%	70%	80%	K+	K-
1	1,60	3,20	4,40	5,40	0,00	2,70	3,80	5,40	6,00	0,00
2	2,70	4,70	5,00	6,00	0,00	3,40	4,30	5,70	6,60	0,00
3	3,80	5,10	5,80	6,50	0,00	3,50	4,90	6,00	6,90	0,00
Rata-rata±SD	2,70± 1,10	4,33± 1,00	5,06± 0,70	5,96± 0,55	0,00± 0,00	3,20± 0,43	4,33± 0,55	5,70± 0,30	6,50± 0,45	0,00± 0,00

Keterangan:

K(+) : Kontrol Positif *ampicillin*

K(-) : Kontrol Negatif DMSO

Tabel 5. 5 Hasil Zona Hambat Bakteri *Shigella dysenteriae*

Replikasi	Diameter Zona Bening Bakteri <i>Shigella dysenteriae</i>									
	Sokletasi					Perkolasi				
	60%	70%	80%	K+	K-	60%	70%	80%	K+	K-
1	1,20	2,80	3,50	5,20	0,00	2,50	3,00	4,40	5,70	0,00
2	1,80	3,40	4,10	5,80	0,00	2,90	3,70	4,90	6,00	0,00
3	2,40	4,10	4,90	6,20	0,00	3,20	4,30	5,40	6,50	0,00
Rata-rata±SD	1,80± 0,60	3,43± 0,65	4,16± 0,70	5,73± 0,50	0,00± 0,00	2,86± 0,35	3,66± 0,65	4,90± 0,50	6,06± 0,40	0,00± 0,00

Keterangan:

K(+) : Kontrol Positif *ampicillin*

K(-) : Kontrol Negatif DMSO

BAB 6 PEMBAHASAN

Uji antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysentriae*. Pada uji antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram dan direplikasi sebanyak 3 kali. Alasan penggunaan pemilihan metode ini karena resiko kegagalan lebih kecil dibanding cara lainnya karena pada saat media yang telah dilakukan penggoresan, media tersebut ditempatkan secara terbalik untuk mencegah tetesan uap air yang timbul jatuh ke atas media yang telah ditanami bakteri, tetesan tersebut dapat mempengaruhi hasil akhir dari inkubasi. Selain itu metode difusi cakram lebih efisien terhadap waktu yang digunakan dalam penelitian Putra I Made A. S., 2015.

Pengujian ini menggunakan dua kontrol dan tiga konsentrasi yang digunakan untuk membandingkan hasil uji aktivitas antibakteri daun daun belimbing wuluh. Kontrol yang dipakai yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Pada kontrol positif menggunakan antibiotik ampicillin, sedangkan kontrol negatifnya menggunakan DMSO 10% karena digunakan sebagai pelarut membuat konsentrasi sampel. Ampicillin merupakan turunan penisilin yang tahan asam tetapi tidak tahan terhadap enzim penisilinase. Pemilihan ampicillin sebagai kontrol positif karena penisilin merupakan antibiotik yang sering digunakan. Penisilin G merupakan obat pilihan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang bukan penghasil penicilase (Jawetz et al., 2005).

Mekanisme kerja ampicillin adalah menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan mengikat satu atau lebih pada ikatan penisilin-protein, sehingga

menyebabkan penghambatan pada tahapan akhir transpeptidase sintesis peptidoglikan dalam dinding sel bakteri, akibatnya biosintesis dinding sel terhambat dan sel bakteri menjadi pecah (lisis) (Peach, 2013). Kontrol positif digunakan untuk membandingkan daya hambat sampel daun belimbing wuluh dengan antibiotik sintetis yang sudah ada. Dan untuk kontrol negatif digunakan untuk mengetahui bahan tambahan tidak memberikan efek antibakteri yang ditandai dengan tidak adanya diameter daya hambat, sehingga dapat dikatakan bahwa kontrol negatif tidak mempunyai daya hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Sampel yang digunakan yaitu ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 60%, 70%, dan 80%.

Pengukuran rata-rata zona hambat diinterpretasi menurut klasifikasi menurut Davis dan Stout dalam Nayna *et al* (2019) diameter zona hambat kurang dari 5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hasil pengukuran diameter zona hambat bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* pada kontrol positif, konsentrasi 60%, konsentrasi 70%, dan konsentrasi 80% yang dilakukan replikasi tiga kali diperoleh hasil zona hambat bakteri dengan menggunakan metode ekstraksi perkolasi dan sokletasi tergolong kategori lemah hingga sedang. Untuk hasil kontrol negatif dengan larutan DMSO 10% tidak memiliki aktivitas antibakteri. Dimetil Sulfoksida (DMSO) adalah senyawa organosulfur, yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air (Hidayah, 2016).

Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terlebih dahulu alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan disterilisasi menggunakan *autoclave*. Sterilisasi ini dimaksudkan untuk menghilangkan mikroorganisme pada alat dan bahan yang akan digunakan untuk pengujian. Media yang digunakan yaitu media NA (*Nutrien Agar*). Penggunaan Medium Nutrient Agar digunakan dikarenakan medium baik sebagai tempat tumbuhnya bakteri baik bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang mana dimanfaatkan sebagai tempat sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, didapatkan rata-rata zona hambat pada setiap sampel terhadap bakteri *Escherichia coli* yaitu menggunakan metode sokletasi dengan konsentrasi 60% sebesar 2,70 mm, konsentrasi 70% sebesar 4,33 mm, konsentrasi 80% sebesar 5,06 mm, dan kontrol positif 5,96 mm. Untuk metode perkolasi dengan konsentrasi 60% sebesar 3,20 mm, konsentrasi 70% sebesar 4,33 mm, konsentrasi 80% sebesar 5,70 mm, dan kontrol positif 6,50 mm. Kemudian untuk setiap sampel terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* yaitu menggunakan metode sokletasi dengan konsentrasi 60% sebesar 1,80 mm, konsentrasi 70% sebesar 3,43 mm, konsentrasi 80% sebesar 4,16 mm, dan kontrol positif 5,73 mm. Untuk metode perkolasi dengan konsentrasi 60% sebesar 2,86 mm, konsentrasi 70% sebesar 3,66 mm, konsentrasi 80% sebesar 4,90 mm, dan kontrol positif 6,06 mm. Maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Pada penelitian ini sampel ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki zona hambat paling besar dengan konsentrasi 80%. Hal tersebut membuktikan bahwa

semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh, maka semakin baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Dibuktikan dengan semakin besar konsentrasi atau zat aktif yang dilarutkan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk, hal ini juga disebabkan oleh banyaknya kandungan metabolit sekunder seperti tannin, saponin, dan flavonoid yang terkandung di dalamnya dan mengakibatkan aktivitas antibakteri yang semakin besar (Suciari, dkk. 2017).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, dan kalium sitrat sehingga memiliki aktivitas sebagai antimikroba dan antibakteri (Febrianti *et al.*, 2019). Senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae* adalah senyawa tanin, flavonoid, dan saponin. Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki aktivitas antibakteri dengan senyawa metabolit sekunder lainnya dengan memiliki mekanisme kerja yang saling bersinergis sehingga menambah aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang dapat membentuk kompleks protein pada dinding sel sehingga terjadi gangguan pada saat pembentukan struktur tubuh bakteri yang menyebabkan bakteri lisis (Sujatmiko, 2014). Untuk mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah zat aktif permukaan pada saponin mampu merusak permeabilitas membrane dan menurunkan tegangan pada permukaan dinding bakteri sehingga menjadi antibakteri karena hampir sama dengan kinerja

detergen (Aini, 2019). Dan mekanisme kerja flavonoid adalah menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara denaturasi protein sehingga pertumbuhan bakteri dapat terganggu (Raditya, 2015).

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh, maka semakin baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysentriae*. Dibuktikan dengan semakin besar konsentrasi atau zat aktif yang dilarutkan maka semakin besar zona hambat yang terbentuk, hal ini juga disebabkan oleh banyaknya kandungan metabolit sekunder seperti tannin, saponin, dan flavonoid yang terkandung di dalamnya dan mengakibatkan aktivitas antibakteri yang semakin besar (Suciari, dkk. 2017).

Perbedaan besarnya daerah zona hambatan untuk masing-masing konsentrasi dan kontrol disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi zat aktif yang terkandung pada ekstrak daun belimbing wuluh. Antibakteri dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap bakteri apabila nilai konsentrasi minimum rendah tetapi daya hambat besar.

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun belimbing wuluh adalah tanin, flavonoid, dan saponin
2. Pada konsentrasi 60%, 70% dan 80% ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. Untuk aktivitas antibakteri terbaik terdapat pada konsentrasi tertinggi yaitu 80% sebesar 6,00 mm dan 5,40 mm terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*.

7.2 Saran

1. Tanaman daun belimbing wuluh dibuat sediaan sederhana seperti teknologi sederhana dan bisa dimanfaatkan langsung oleh masyarakat
2. Tanaman daun belimbing wuluh perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di ekstrak etanol daun belimbing wuluh.
3. Tanaman daun belimbing wuluh perlu dilakukan penelitian sejenis dengan menggunakan bakteri lain untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun daun belimbing wuluh sebagai zat antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Agastia, A. *et al.* (2021) 'Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi L*) Terhadap Bakteri Eschericia Coli', *Jurnal Insan Cendekia*, 8(1), pp. 29–38. <https://doi.org/10.35874/jic.v8i1.639>.
- Aini, A.D.N. (2019) Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale Linn*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Stahylococcus Aureus*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.
- Amirullah (2015) 'Populasi Dan Sampel', *Wood Science and Technology*, 16(4), pp. 293–303.
- Apri Arisandi *et al.* (2017) 'Jumlah Koloni Pada Media Kultur Bakteri Yang berasal Dari Thallus Dan Perairan Sentra Budidaya Kappaphycus alvarezii Di Sumenep', *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 11, pp. 57–64.
- CDC, 2015. Center for Disease Control and Prevention. [Online] Available at: https://www.cdc.gov/healthyweight/assessing/BMI/childrens_BMI/about_childrens_BMI.html. [Diakses 17 Februari 2022].
- Febrianti, D.R. *et al.* (2019) 'Potensi Kombinasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Dengan Amoksisilin Terhadap *Staphylococcus aureus*', *Borneo Journal Of Phamascientech*, 03(6), pp. 6–13.
- Ginting, P.A.W. (2018) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol, Etil Asetat, Dan N-Heksana Dari Daun Benalu Alpukat (*Dendrophthoe Pentandra (L.)Omiq.*). Universitas Sumatera Utara Medan.
- Hasanah, N. and Novian, D.R. (2020) 'Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat

- (*Propionibacterium acnes*), *Journal Ilmiah Farmasi*, 9(1), pp. 46–53.
- Hidayah, Nikmatul. 2016. Uji efektivitas ekstrak *Sargassum muticum* sebagai alternatif obat bisul akibat aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students* 1 (1).
- Hutagaol and Fernandez, I. (2017) ‘Identifikasi Bakteri Pada Tangan Penjual Makanan Di Kawasan Sd Di Kelurahan Tanjung Rejo’, *Respositori Intitusi USU*, p. 53. <http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/3708>.
- Irawan, A. *et al.* (2022) ‘Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Jahe Merah (*Zingiber officinale* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*’, *Journal Pharm S.R*, 1, p. 2022.
- Jawetz, *et al.* (2005). Mikrobiologi Kedokteran, Edisi 23, Alih Bahasa Huriwati Hartanto, Penerbit Buku Kedokteran ECG; Jakarta.
- Kemendes RI (2021) *Health Information Systems, IT - Information Technology*. <https://doi.org/10.1524/itit.2006.48.1.6>.
- Khusuma, A. *et al.* (2019) ‘Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji’, *Jurnal Kesehatan Prima*, 13(2), p. 151. <https://doi.org/10.32807/jkp.v13i2.257>.
- Kristianto, A. *et al.* (2014) ‘Pengaruh Ekstrak Kasar Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Pada Pengolahan Air (the Effect of Crude Extract Tannins From Star Fruit ’ S Leaves (*Averrhoa Bilimbi* L.) on Water Treatment’, *Jurnal BERKALA SAINTEK*, 2(1), pp. 54–58.
- Kurniasih, D. (2014) Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Sebagai Antibakteri Pada Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara In Vitro.

- Skripsi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan, Universitas Pasundan, Bandung. Universitas Pasundan Bandung.
- Marfuah, I. *et al.* (2018) 'Kajian Potensi Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa racemosa*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*', *World Development*, 1(1), pp. 1–15.
<http://www.fao.org/3/I8739EN/i8739en.pdf>
<http://dx.doi.org/10.1016/j.adolescence.2017.01.003>
<http://dx.doi.org/10.1016/j.childyouth.2011.10.007>
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23288604.2016.1224023>
<http://pdx.sagepub.com/lookup/doi/10.1016/j.adolescence.2017.01.003>
- Marjoni, M. R. (2016). Dasar-Dasar Fitokimia untuk diploma III. Jakarta :CV. Trans InfoMedia.
- Murwani, S., Qosimah, D. & Amri, I. A., (2017). Penyakit Bakterial Pada Ternak Hewan Besar Dan Unggas. Malang: UB Press.
- Nayna, O. K., & Tareq, S. M. (2019). Application of semiconductor nanoparticles for removal of organic pollutants or dyes from wastewater. In *Nanotechnology in Water and Wastewater Treatment* (pp. 267-290). Elsevier.
- Niswah, L. (2014). Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa blume*) menggunakan metode difusi cakram.
- Panjaitan, R.S. *et al.* (2017) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*', *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 2(1), p. 43. Available at: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

- Parikesit, 2017. M.. Manfaat Dan Khasiat Belimbing Wuluh Jurnal. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Poltes Kemenkes Padang Univ Andalas
- Peach, K. C., Bray, W. M., Winslow, D., Linington, P. F., & Linington, R. G. 2013. Mechanism of action-based Classification of Antibiotics Using High- Content Bacterial Image Analysis. Mol. BioSyst. Molecular BioSystems 9(7).
- Pendit, P.A.C.D. (2015) Karakteristik Fisik-Kimia Dan Ktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) (Kajian Jenis Pelarut Dan Rasio Bahan: Pelarut). Universitas Brawijaya Malang.
- Putra I Made A. S. (2015) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annonae muricata L.*) Dengan Metode Difusi Agar Cakram Terhadap *Escherichia coli*, Jurnal Ilmiah Medicamento, 1 (1), 1-5.
- Raditya, A. (2015) 'Aneka Tanaman Apotek Hidup di Sekitar Kita', Jakarta: One Books.
- Sari, M. *et al.* (2020) 'Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Bebas Tanin Sebagai Antibakteri', Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan, 3(1), pp. 635–644.
- Shrotriya, A. 2015. An Introduction To Shigellosis And Strategies Against Potent Drug. International Journal Of Pharmacy & Life Sciences. 6 : 8-9.
- Suciari dkk. (2017). Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Berbagai Konsentrasi Rebusan Daun Salam (*syzygium polyanthum*) Secara In Vitro. <http://ejournal.poltekkes.denpasar.ac.id>. 5(2). 92-100,

- Sujatmiko, Y.A. (2014) Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* B.) Dengan Cara Ekstraksi yang Berbeda Terhadap *Escherichia coli* Sensitif dan Multiresisten Antibiotik, *Ilmiah*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Suryaningsih, S. (2016) 'Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Sumber Energi Dalam Sel Galvani', *Jurnal Penelitian Fisika dan Aplikasinya (JPFA)*, 6(1), p. 11. Available at: <https://doi.org/10.26740/jpfa.v6n1.p11-17>.
- Sutiknowati, L.I. (2016) "Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*", *Jurnal Oseana*, 41(4), pp. 63–71. Available at: oceanografi.lipi.go.id.
- Syah, B.W. and Purwani, K.I. (2016) 'Pengaruh Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Spodoptera litura*', *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 5(2), pp. 2337–2350.
- Triwati (2014) Karakterisasi Simplisia dan Skirining Fitokimia serta Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skells. Universitas Sumatera Utara Medan.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kalender Pengerjaan Skripsi

No	Kegiatan	Juni				Juli				Agustus				September				Oktober				November				Desember			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Penyusunan proposal																												
2.	Seminar Proposal dan Revisi Proposal																												
3.	Pengurusan Izin Penelitian dan Determinasi																												
4.	Penelitian																												
5.	Pengolahan Data																												
6.	Penyusunan Skripsi																												
7.	Sidang Skripsi																												

Lampiran 2. Standar Operasional Prosedur Sokletasi

Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Dengan Metode Sokletasi

 <p>Universitas dr. Soebandi Jember</p>	No. SOP	
	Tgl. Pembuatan	08-08-2022
	Tgl. Revisi	
	Tgl. Efektif	
	Disahkan oleh	Penanggung Jawab Laboratorium Edi Susanto S.Farm NIDN. 199410102019021155
1. Fungsi	Untuk mengekstraksi bahan alam menggunakan pelarut organik secara kontinu dengan pemanasan.	
2. Pelaksana	Linda Eka Saputri	
3. Gambar alat	 <p>Keterangan:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kondensor: berfungsi sebagai pendingin 2. Timbal: berfungsi sebagai wadah untuk sampel yang ingin diambil zatnya 3. Pipa F: berfungsi sebagai jalannya uap, bagi pelarut yang menguap dari proses penguapan 4. Sifon: berfungsi sebagai perhitungan siklus, bila pada sifon laruannya penuh kemudian jatuh ke labu alas bulat maka hal ini dinamakan 1 siklus 5. Labu alas bulat: berfungsi sebagai wadah bagi 	

	<p>sampel dan pelarutnya</p> <p>6. Hot plate: berfungsi sebagai pemanas larutan</p>
4. Prosedur	<ol style="list-style-type: none"> 1. Diletakkan labu sokletasi pada <i>heating mantle</i> 2. Dimasukkan pelarut etanol 70% yang akan digunakan, selanjutnya dimasukkan batu didih 3. Dipasang tabung sokletasi <ol style="list-style-type: none"> a. Daun belimbing wuluh ditimbang terlebih dahulu sebanyak 200,12 gram kemudian dibungkus dengan kertas saring. b. Sampel dimasukkan kedalam tabung sokletasi 4. Disambungkan kondensor pada tabung sokletasi yang telah terpasang, jepit kondensor dengan klem yang telah terpasang statif. 5. Diatur ketinggian klem agar kondensor dan labu destilasi tidak miring. 6. Dipasang selang air pada kondensor dan atur agar aliran counter current. 7. Dialirkan air menuju kondensor 8. Dihubungkan steker <i>heating mantle</i>, dengan stop kontak 220 V. 9. Diatur skala pemanasan <i>heating mantle</i> pada skala pemanasan 50°C. 10. Dilakukan ekstraksi sampai cairan tidak berwarna . 11. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan <i>rotary evaporator</i> pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental

Lampiran 3. Standar Operasional Prosedur Perkolasi
Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh Dengan Metode Perkolasi

 <p>Universitas dr. Soebandi Jember</p>	No. SOP	
	Tgl. Pembuatan	08-08-2022
	Tgl. Revisi	
	Tgl. Efektif	
	Disahkan oleh	Penanggung Jawab Laboratorium Edi Susanto S.Farm NIDN. 199410102019021155
1. Fungsi	Untuk mengekstraksi bahan alam menggunakan pelarut organik dengan cara melewatkan pelarut yang sesuai secara lambat pada simplisia dalam suatu percolator.	
2. Pelaksana	Linda Eka Saputri	
3. Gambar alat	 <p>Keterangan:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Perkolator : bagian atas berfungsi sebagai tempat penyimpanan cadangan penyari dan pada bagian tengah sebagai tempat penyimpanan serbuk simplisia 2. Botol penyari : berfungsi sebagai penampung cairan penyari 3. Keran : berfungsi sebagai mengatur aliran perkolat 	

	<ol style="list-style-type: none">4. Tutup karet : untuk mencegah penguapan5. Kertas saring : berfungsi sebagai penyaring6. Botol pekolat : berfungsi sebagai penampung pekolat
4. Prosedur	<ol style="list-style-type: none">1. Dirangkai alat perkolasi2. Ditimbang 200,12 gram serbuk daun belimbing wuluh3. Dimasukkan simplisia ke dalam suatu bejana silinder yang dibawahnya diberi sekat berpori4. Ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 mL dengan cara dialirkan dari atas ke bawah melewati serbuk simplisia5. Dilakukan selama 1X24 jam, pada suhu ruang.6. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Lampiran 4. Standar Operasional Prosedur Pengujian
Pembuatan Uji Antibakteri

 <p>Universitas dr. Soebandi Jember</p>	No. SOP	
	Tgl. Pembuatan	08-08-2022
	Tgl. Revisi	
	Tgl. Efektif	
	Disahkan oleh	Penanggung Jawab Laboratorium Edi Susanto S.Farm NIDN. 199410102019021155
1. Fungsi	Untuk menguji bahan alam menggunakan pelarut organik dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Shigella dysenteriae</i>	
2. Pelaksana	Linda Eka Saputri	
3. Alat dan bahan	<p>Alat:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. tabung reaksi 2. rak tabung 3. cawan petridist 4. mikro pipet 5. blue tip 6. pipet ukur 7. kawat ose 8. lampu pijar 9. kertas cakram <p>Bahan:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. ekstrak daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.) 60%; 70% dan 80% 2. media Nutrient Agar (NA) 3. media Nutrient Broth (NB) 4. kultur murni bakteri <i>Escherichia coli</i> 5. kultur murni bakteri <i>Shigella dysenteriae</i> 6. DMSO 1% 7. Ampicillin 8. NaCl 9. Standart Mc Farland 	
4. Prosedur	<p>Peremajaan Bakteri</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Disiapkan alat yang dibutuhkan seperti kawat ose dan tabung reaksi lalu bungkus dengan kertas 	

	<p>coklat</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Nutrient Agar (NA) 4,5 gram dalam 160 ml aquades dan Nutrient Broth (NB) 0,32 gram dalam 25 mL dimasukkan kedalam erlenmeyer berbeda lalu dipanaskan di atas hot plate stirer sampai bahan larut sempurna 3. Media dan alat yang digunakan tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. 4. Media NA yang telah steril dituang kedalam tabung reaksi lalu dimiringkan sampai memadat lalu diinokulasi kultur bakteri Media yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam 5. Media NA yang sudah diinkubasi diambil 1 kawat ose kemudian diinokulasi di media NB steril pada tabung reaksi lalu di vortek 6. Media yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam <p>Pembuatan Perlakuan, Kontrol Negatif dan Kontrol Positif</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol negatif 10 mL DMSO dimasukkan kedalam gelas ukur dan ditambahkan aquades sampai volumenya 100 mL 2. Kontrol positif Antibiotik Ampicillin 0,5 mg dilarutkan dalam 5 mL DMSO 3. Konsentrasi 60% Ekstrak sebanyak 3 gram dilarutkan dalam DMSO 5 ml 4. Konsentrasi 70% Ekstrak sebanyak 3,5 gram dilarutkan dalam DMSO 5 ml 5. Konsentrasi 80% Ekstrak sebanyak 4 gram dilarutkan dalam DMSO 5 ml <p>Pembuatan Suspensi Bakteri, Larutan Mc Farland dan Uji Mc Farland</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pembuatan suspensi bakteri <i>Escherichia coli</i> dan
--	---

	<p><i>Shigella dysenteriae</i> diambil 1 mL pada media NB lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi NaCl 10 mL kemudian di vortek</p> <ol style="list-style-type: none">2. Pembuatan larutan Mc Farland pipet 1% BaCl 0,05mL dan 1% H₂SO₄ 9,95mL dimasukkan tabung reaksi lalu di vortek3. Kemudian dispektro dan diamati absorbansinya dengan panjang gelombang 625 nm rentang 0,08 – 0,13. <p>Uji Aktivitas Antibakteri</p> <ol style="list-style-type: none">1. Paper disc dicelupkan kedalam DMSO sebagai kontrol negatif (-) dan kontrol positif (+) paper disc dicelupkan kedalam antibiotik ampicillin2. Kontrol perlakuan paper disc dicelupkan ke dalam ekstrak daun belimbing wuluh yang sudah diekstraksi menggunakan metode sokletasi dan perkolasi dengan konsentrasi 60%, 70% dan 80%3. Kemudian paper disc yang sudah dicelupkan, diletakkan di atas media NA yang berisi bakteri uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam4. Pengamatan dilakukan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar paper disc
--	--

Lampiran 5. Determinasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
UPA. PENGEMBANGAN PERTANIAN TERPADU
Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 146/PL.17.8/PG/2022

Menindaklanjuti surat dari Dekan Universitas dr. Soebandi Program Studi S1 Farmasi No: 2123/FIKES.UDS/U/VIII/2022 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Linda Eka Saputri
NIM : 18040052
Jur/Fak/PT : Prodi S1 Farmasi/ Universitas dr. Soebandi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Rosidae; Ordo: Geraniales; Famili: Oxalidaceae; Genus: Averrhoa; Spesies: Averrhoa bilimbi, L.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 16 Agustus 2022
Ka. UPA. Pengembangan Pertanian Terpadu

Y. Bidi Prasetyo, S.Pt, MP, IPM
NIP. 197106212001121001

Lampiran 6. Penimbangan dan Perhitungan

1. Perhitungan hasil Rendemen

Sokletasi

$$\%Rendemen = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$R1 = \frac{23,66}{200,10} \times 100\% = 11,82 \%$$

$$R2 = \frac{22,43}{200,10} \times 100\% = 11,20 \%$$

$$R3 = \frac{23,35}{200,10} \times 100\% = 11,66 \%$$

Perkolasi

$$\%Rendemen = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

$$R1 = \frac{15,39}{200,12} \times 100\% = 7,69 \%$$

$$R2 = \frac{14,64}{200,12} \times 100\% = 7,31 \%$$

$$R3 = \frac{14,22}{200,12} \times 100\% = 7,10 \%$$

2. Perhitungan pembuatan media

a. NA (*Nutrient Agar*)

$$\begin{aligned} \text{Nutrient Agar (NA)} &= 500 \text{ gram} \sim 17,8 \text{ L} \\ &\quad \times \text{gram} \sim 0,25 \text{ L} \\ &= \frac{500 \text{ gram} \times 0,25 \text{ L}}{17,8 \text{ L}} \\ &= 7 \text{ gram} \sim 250 \text{ mL} \end{aligned}$$

Caranya:

Diambil NA kemudian ditimbang sebanyak 7 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditambahkan aquades ad 250 mL

b. NB (*Nutrient Broth*)

$$\begin{aligned} \text{Nutrient Broth (NB)} &= 500 \text{ gram} \sim 38,4 \text{ L} \\ &\quad \times \text{gram} \sim 0,025 \text{ L} \\ &= \frac{500 \text{ gram} \times 0,025 \text{ L}}{38,4 \text{ L}} \\ &= 0,32 \text{ gram} \sim 25 \text{ mL} \end{aligned}$$

Caranya:

Diambil NB kemudian ditimbang sebanyak 0,32 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditambahkan aquades ad 25 mL

3. Pembuatan larutan Mc Farland 0,5

$$\begin{aligned} \text{BaCl } 1\% &= 1 \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &X \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ gram dalam } 100 \text{ mL aquades} \\ \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ } 1\% &= 1 \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &X \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &= 1 \text{ gram dalam } 100 \text{ mL aquades} \end{aligned}$$

Caranya :

BaCl diambil sebanyak 0,05 mL dengan menggunakan pipet volume dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian diambil H₂SO₄ sebanyak 9,95 mL dengan pipet ukur dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu divortex hingga homogen.

4. Pembuatan suspensi bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

$$\begin{aligned} \text{NaCl } 0,9\% &= 0,9 \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &x \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &= 0,9 \text{ gram dalam } 100 \text{ mL aquades} \end{aligned}$$

Caranya :

Larutan NaCl diambil sebanyak 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan kultur bakteri sebanyak 100 μ L vortex hingga homogen. Kemudian diamati absorbansinya dengan panjang gelombang 625 nm rentang 0,08 – 0,13.

5. Pembuatan konsentrasi sampel, kontrol positif dan kontrol negatif

$$\begin{aligned} \text{K (-)} &= \text{DMSO } 10\% = 10 \text{ mL} \sim 100 \text{ mL} \\ &x \text{ gram} \sim 100 \text{ mL} \\ &= 10 \text{ mL dalam } 100 \text{ mL aquades} \end{aligned}$$

$$\text{K (+)} = \text{Ampicillin } 0,5 \text{ gram dilarutkan ke dalam DMSO } 5 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} 60\% &= \frac{60 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,6 \text{ gram/mL} \\ &= \frac{0,6 \text{ gram}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 3 \text{ gram dalam } 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Ekstrak 3 gram dilarutkan ke dalam DMSO 5 mL

$$\begin{aligned} 70\% &= \frac{70 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,7 \text{ gram/mL} \\ &= \frac{0,7 \text{ gram}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 3,5 \text{ gram dalam } 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Ekstrak 3,5 gram dilarutkan ke dalam DMSO 5 mL

$$\begin{aligned} 80\% &= \frac{80 \text{ gram}}{100 \text{ mL}} = 0,8 \text{ gram/mL} \\ &= \frac{0,8 \text{ gram}}{1 \text{ mL}} \times 5 \text{ mL} = 4 \text{ gram dalam } 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Ekstrak 4 gram dilarutkan ke dalam DMSO 5 mL

Lampiran 7. Hasil Mc Farland dan Suspensi Bakteri

Test Name: ----- Cell # 1

ID#	Abs
1	0.088

Page 1, Sample 1

Measure	Save	Measure
Blank	Data	Sample

Test Name: SIGELLA Cell # 1

ID#	Abs
1	0.089

Page 1, Sample 1

Measure	Save	Measure
Blank	Data	Sample

Test Name: ECOLI Cell # 1

ID#	Abs
1	0.099

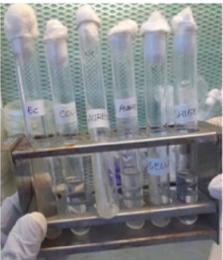
Page 1, Sample 1

Measure	Save	Measure
Blank	Data	Sample

Lampiran 8. Dokumentasi

No.	Proses	Gambar
1	Hasil sortasi basah	
2	Hasil pengeringan	
3	Hasil penghalusan	
4	Proses ekstraksi	<p data-bbox="561 1000 636 1022">Sokletasi</p> <p data-bbox="767 1000 841 1022">Perkolasi</p> 

5	Proses evaporasi/pengentalan	
6	Larutan sampel dengan beberapa konsentrasi dan kontrol	<p data-bbox="543 620 621 642">Perkolasi</p> <p data-bbox="780 620 858 642">Sokletasi</p> 
7	Proses sterilisasi	

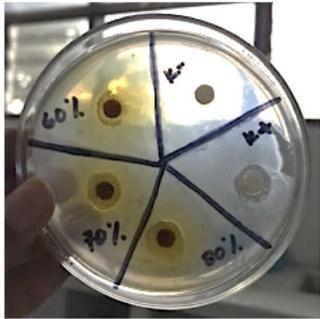
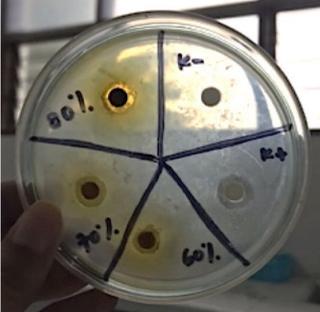
8	Larutan Mc farland dan suspensi bakteri	<p data-bbox="540 213 636 234">Mc Farland</p>  <p data-bbox="745 213 880 234">Suspensi Bakteri</p> 
9	Proses pengujian antibakteri	

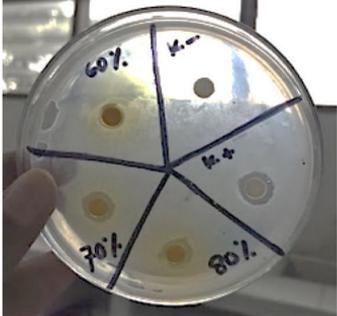
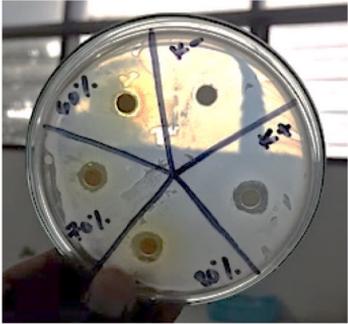
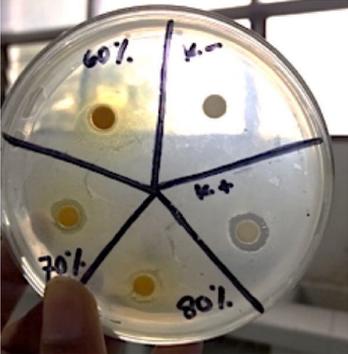
Lampiran 9. Hasil Uji Skrining Fitokimia

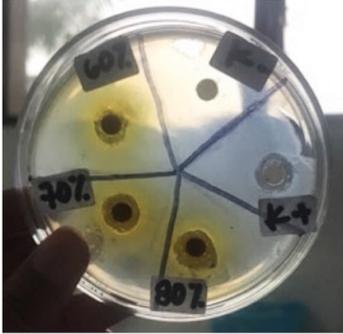
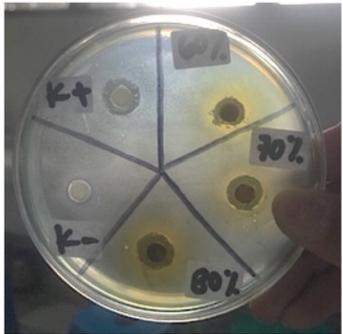
Pengujian	Dokumentasi	Pereaksi	Keterangan
Sokletasi			
Tanin		FeCl ₃ 1%	Positif mengandung tannin, larutan uji berubah menjadi biru kehitaman atau kehijauan
Saponin		Air panas + kocok kuat	Positif mengandung saponin, terdapat busa
Flavonoid		Serbuk Mg+HCl pekat	Positif mengandung flavonoid larutan berubah menjadi merah

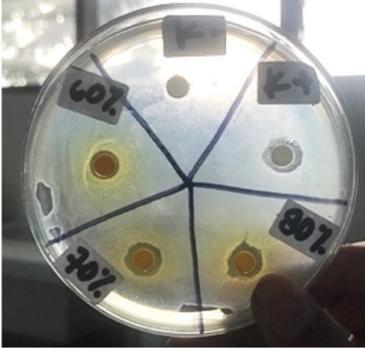
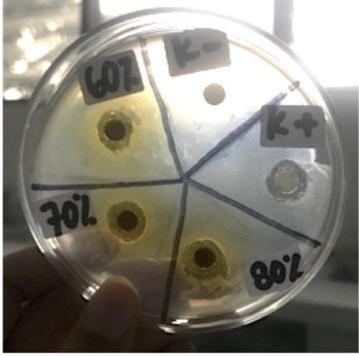
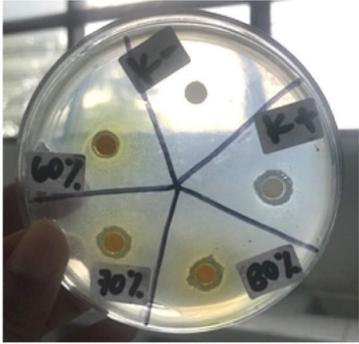
Perkolasi			
Tanin		FeCl ₃ 1%	Positif mengandung tannin, larutan uji berubah menjadi biru kehitaman atau kehijauan
Saponin		Air panas + kocok kuat	Positif mengandung saponin, terdapat busa
Flavonoid		Serbuk Mg+HCl pekat	Positif mengandung flavonoid larutan berubah menjadi merah

Lampiran 10. Pengukuran Zona Hambat

Bakteri	Metode	Replikasi	Gambar
<i>Escherichia coli</i>	Sokletasi	R1	
		R2	
		R3	

<i>Escherichia coli</i>	Perkolasi	R1	
		R2	
		R3	

<i>Shigella dysenteriae</i>	Sokletasi	R1	
		R2	
		R3	

<i>Shigella dysenteriae</i>	Perkolasi	R1	
		R2	
		R3	

Lampiran 11. Riwayat Hidup

A. Biodata Pribadi

Nama : Linda Eka Saputri
Tempat, Tanggal Lahir : Banyuwangi, 24 Juni 2000
Alamat : Dusun. Kebalen Kidul, RT
002/RW 002, Desa.
Lemahbangdewo, Kec.
Rogojampi, Kab. Banyuwangi
Jenis Kelamin : Perempuan
E-mail : lindhaekha68@gmail.com
Agama : Islam
Status : Belum Menikah
Kewarganegaraan : Indonesia

B. Riwayat Pendidikan

2004 – 2006 : TKM Khodijah 157 Rogojampi
2006 – 2012 : MI Islamiyah Rogojampi
2012 – 2015 : SMPN 02 Rogojampi
2016 – 2018 : SMA 17 Agustus 1945 Banyuwangi
2018 - Sekarang : Universitas dr. Soebandi Jember