

**Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang  
*Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan  
*Staphylococcus aureus* Penyebab Diare**

**Skripsi**



**Jade Septhimoranie  
31170161**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2021**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI**  
**SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jade Septhimoranie  
NIM : 31170161  
Program studi : Biologi  
Fakultas : Bioteknologi  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Diare”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta  
Pada Tanggal : 16 Juni 2020

Yang menyatakan



(Jade Septhimoranie)  
NIM.31170161

Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang  
*Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan  
*Staphylococcus aureus* Penyebab Diare

**Skripsi**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains  
(S.Si)  
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana



**Jade Septhimoranie**  
**31170161**

**Program Studi Biologi**  
**Fakultas Bioteknologi**  
**Universitas Kristen Duta Wacana**  
**Yogyakarta**  
**2021**

## Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

EFEKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK KULIT BATANG *Averrhoa bilimbi* L. TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*  
PENYEBAB DIARE

**JADE SEPTIMORANIE**  
**31170161**

Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada tanggal 05 Februari 2021

### Nama Dosen

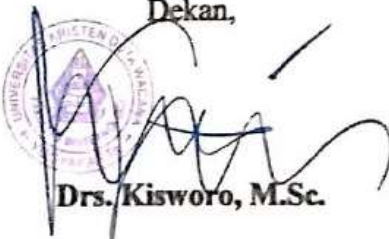
### Tanda Tangan

1. Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.  
(Penguji I / Ketua Tim) 
2. drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc.  
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji II) 
3. Dwi Aditiyarini, S.Si., M.Biotech.  
(Dosen Pembimbing III / Dosen Penguji III) 

Yogyakarta, 05 Februari 2021

Disahkan oleh:

Dekan,

  
Drs. Kisworo, M.Sc.

Ketua Program Studi,

  
Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

## LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang  
*Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan  
*Staphylococcus aureus* Penyebab Diare

Nama Mahasiswa : Jade Sепthimoranie

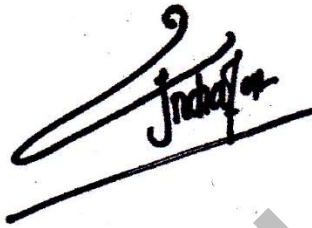
Nomor Induk Mahasiswa : 31170161

Hari/Tanggal Ujian : Jumat/5 Februari 2021

Disetujui oleh:

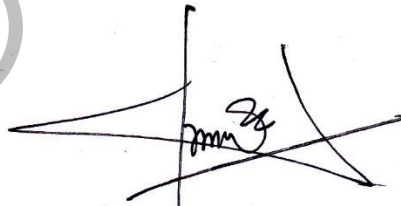
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



(drh. Vinsa Cantya Prakasita, SKH., M.Sc) (Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech)  
NIK : 204 E 539 NIK : 194 KE 421

Ketua Program Studi Biologi



(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si)  
NIK : 884 E 075

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Jade Septhimoranie

NIM : 31170161

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Diare”**

Adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 03 Februari 2021



(Jade Septhimoranie)

NIM : 31170161

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Diare”. Sebagai syarat kelulusan dan perolehan gelar sarjana sains skripsi ini dilakukan pada Fakultas Bioteknologi, Program Studi Biologi, Universitas Kristen Duta Wacana.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat diselesaikan tidak lepas dari bimbingan, doa, semangat, dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Pada kesempatan ini penulis ini mengucapkan terimakasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat, tuntunan, dan kasih-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
2. drh. Vinsa Cantya Prakasita, S SKH., M.Sc selaku Dosen Pembimbing I atas pengarahan, bimbingan, dukungan, dan telah meluangkan waktu sehingga penelitian skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Dwi Adityarini, S.Si., M.Biotech selaku Dosen Pembimbing II atas pengarahan, bimbingan, dukungan, dan telah meluangkan waktu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Tri Yahya Budiarmo, S.Si, MP. selaku Dosen Wali yang telah membantu sehingga penelitian skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Papa Agustinus, Mama Julce Kaguansage, dan Calvin I. G. Kaguansage serta seluruh keluarga yang setia menemani, memberikan doa dan dukungan baik secara materi maupun rohani.
6. Teman-teman terkasih Yohanes A.C., Matthew L., Gracia B., Safriana N. W., Tara I.K., Setya W.H., Chrismelan J.P., Allan B.S., Y. Elsa N., Regina A.R., L. Billy V. Dj., Anggel C., Cindy T., H. Dwiky, Fedy E., Christo A., Katherine H., Mayang S., Inawati E., Alvin P.S., Dior S., Pebrian R.P., Nadhya V.W., Tesalonika N.S., Lisa N.S., Adela M.D., Eirene F.N., Aldini R.S., Firda A.J., Syahla R.Y., Evita L., Atika A., Ade A., Christy R., Astrid H., Eka A., Devi Y.W, Juanita, Dheffi N., Jeremia A., Lita M., dan teman-

teman angkatan 2017 yang telah menemani, memberi bantuan, dan dukungan baik secara

7. langsung maupun tidak langsung. Kakak-kakak terkasih Angelia W., Lidia E. C., Vibe Y. S., Natalie S. S., Jecica C. S., Abner A. W., Graciela C. N., Kurmia C. T., Brahma S. C., Eva L., Anjela N., dan Jonly L. yang telah menemani, memberikan bimbingan, dan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masuk jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menjadikan skripsi yang sempurna, sehingga dapat bermanfaat bagi penulis dan pihak lain yang membutuhkan.

Yogyakarta, 03 Februari 2021

© UKD M



## DAFTAR ISI

### Halaman

|   |      |
|---|------|
| HALAMAN SAMBUNG DEPAN.....                              | i    |
| HALAMAN SAMBUNG BAGIAN DALAM.....                       | ii   |
| HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI.....                     | iii  |
| HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....                  | iv   |
| LEMBAR PERNYATAAN.....                                  | v    |
| KATA PENGANTAR.....                                     | vi   |
| DAFTAR ISI.....   | viii |
| DAFTAR TABEL.....                                       | xi   |
| DAFTAR GAMBAR.....                                      | xii  |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                    | xiii |
| ABSTRAK.....  | xiv  |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                   | xv   |
| BAB I PENDAHULUAN.....                                  | 1    |
| 1.1 Latar Belakang.....                                 | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                                | 2    |
| 1.3 Hipotesis.....                                      | 2    |
| 1.4 Tujuan Penelitian.....                              | 2    |
| 1.4.1 Tujuan Umum.....                                  | 2    |
| 1.4.2 Tujuan Khusus.....                                | 3    |
| 1.5 Manfaat.....  | 3    |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....                            | 4    |
| 2.1 Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....  | 4    |
| 2.1.1 Klasifikasi Ilmiah <i>Averrhoa bilimbi</i> L..... | 4    |
| 2.1.2 Morfologi Tanaman <i>Averrhoa bilimbi</i> L.....  | 4    |
| 2.1.3 Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.....       | 5    |
| 2.2 Diare.....  | 5    |
| 2.3 <i>Escherichia coli</i> .....                       | 6    |
| 2.3.1 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i> .....         | 6    |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.2 Karakteristik <i>Escherichia coli</i> .....   | 6  |
| 2.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 7  |
| 2.4.1 Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 7  |
| 2.4.2 Karakteristik <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 7  |
| BAB III METODOLOGI.....   | 8  |
| 3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....  | 8  |
| 3.2 Alat.....   | 8  |
| 3.3 Bahan.....  | 8  |
| 3.4 Cara Kerja .....  | 8  |
| 3.4.1 Pensterilan Alat dan Bahan .....  | 8  |
| 3.4.2 Ekstraksi Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L .....  | 9  |
| 3.4.3 Skrining Fitokimia .....  | 9  |
| 3.4.3.1 Uji Flavonoid .....   | 9  |
| 3.4.3.2 Uji Saponin .....   | 10 |
| 3.4.3.3 Uji Alkaloid .....  | 10 |
| 3.4.4 Uji Total Fenol.....  | 10 |
| 3.4.4.1 Uji Asam Galat .....  | 10 |
| 3.4.4.2 Uji Total Fenol Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L .....  | 11 |
| 3.4.5 Pembuatan Seri Konsentrasi .....  | 12 |
| 3.4.6 Uji Aktivitas Daya Hambat Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L<br>Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .....             | 12 |
| 3.4.6.1 Re-kultur Bakteri .....   | 12 |
| 3.4.6.2 Pewarnaan Gram.....   | 12 |
| 3.4.6.3 Uji Katalase.....   | 13 |
| 3.4.6.4 Re-suspensi Bakteri .....   | 13 |
| 3.4.6.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L. terhadap <i>Escherichia coli</i> atau <i>Staphylococcus aureus</i> .<br>..... | 14 |
| 3.4.7 Uji <i>Minimum Inhibition Concentration</i> (MIC) <i>Escherichia coli</i> .....   | 15 |
| 3.4.8 Uji <i>Minimum Inhibition Concentration</i> (MIC) <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 15 |

|   |    |
|---|----|
| 3.5 Analisis Data .....   | 16 |
| 3.6 Desain Alir Penelitian .....  | 16 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....   | 17 |
| 4.1 <i>Sampling</i> dan Ekstraksi Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.....   | 17 |
| 4.2 Skrining Fitokimia.....   | 18 |
| 4.3 Total Fenol Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.....   | 19 |
| 4.4 Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L<br>Terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> ..... | 21 |
| 4.4.1 Re-identifikasi <i>Escherichia coli</i> .....   | 21 |
| 4.4.2 Re-identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....  | 23 |
| 4.4.3 Daya Hambat Ekstrak <i>Averrhoa bilimbi</i> L. terhadap <i>Escherichia coli</i> .....   | 25 |
| 4.4.4 Daya Hambat Ekstrak <i>Averrhoa bilimbi</i> L. terhadap<br><i>Staphylococcus aureus</i> .....   | 27 |
| 4.5 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) <i>Escherichia coli</i> .....   | 27 |
| 4.6 <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) <i>Staphylococcus aureus</i> ..   | 29 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....   | 32 |
| 5.1. Kesimpulan.....  | 32 |
| 5.2. Saran.....   | 32 |
| DAFTAR PUSTAKA .....  | 33 |
| LAMPIRAN.....   | 38 |

## DAFTAR TABEL

| Nomor Tabel | Judul Tabel  | Halaman |
|-------------|--|---------|
| 3.1         | Kategori Zona Hambat Antibakteri   | 14      |
| 4.1         | Hasil Rendemen Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.   | 18      |
| 4.2         | Hasil Rendemen Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.   | 18      |
| 4.3         | Total Fenol pada Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.   | 21      |
| 4.4         | Diameter Zona Hambat Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L. terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>   | 27      |
| 4.5         | <i>Optical Density</i> Hasil Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L. terhadap <i>Escherichia coli</i>      | 29      |
| 4.6         | <i>Optical Density</i> Hasil Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L. terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> | 31      |

## DAFTAR GAMBAR

| Nomor Gambar | Judul Gambar   | Halaman |
|--------------|--|---------|
| 2.1          | Pohon Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi</i> L.)                                      | 4       |
| 3.1          | Desain Alir Penelitian   | 16      |
| 4.1          | Hasil Ekstraksi Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.                                  | 18      |
| 4.2          | Hubungan Konsentrasi asam galat ( $\mu\text{g/mL}$ ) dengan absorbansi                   | 20      |
| 4.3          | Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> pada Media EMBA ( <i>Eosin Methylene Blue Agar</i> ) | 21      |
| 4.4          | Pengecatan Gram <i>Escherichia coli</i>  | 22      |
| 4.5          | Uji Katalase <i>Escherichia coli</i>   | 22      |
| 4.6          | Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> pada Media BAP ( <i>Blood Agar Plate</i> )      | 23      |
| 4.7          | Pengecatan Gram <i>Staphylococcus aureus</i>   | 24      |
| 4.8          | Uji Katalase <i>Staphylococcus aureus</i>  | 25      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| <b>Nomor</b> | <b>Judul Lampiran</b>  |
|--------------|--|
| 1.           | Sertifikat <i>Staphylococcus aureus</i>  |
| 2.           | Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.  |
| 3.           | Uji Total Fenolik Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.  |
| 4.           | Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang <i>Averrhoa bilimbi</i> L.<br>terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 5            | Kartu Aktivitas Skripsi  |

©UKDW

## ABSTRAK

### **Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Penyebab Diare**

JADE SEPTIMORANIE

Diare adalah penyakit gangguan pencernaan dengan tingkat kematian balita yang sangat tinggi. Salah satu penyebab diare adalah adanya infeksi dari virus, bakteri, dan jamur. Beberapa bakteri yang memiliki persentase yang tinggi pada feses penderita diare ialah *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Antibiotik merupakan salah satu cara untuk mencegah diare, namun menimbulkan resistensi terhadap bakteri. Oleh karena itu dibutuhkan cara pencegahan lain yaitu menggunakan bahan alami seperti kulit batang Belimbing Wuluh. Kulit batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) biasanya dimanfaatkan sebagian obat tradisional karena diketahui memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik yang dimungkinkan dapat mencegah pertumbuhan dari *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tujuan dari penelitian ini dilakukan adalah untuk mengetahui daya hambat ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. pada pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Metode penelitian yang digunakan adalah proses ekstraksi menggunakan metode dekoktasi dengan pelarut akuades, kemudian uji aktivitas antibakteri kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* atau *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer, dan uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) dengan metode mikrodilusi. Analisis data dilakukan menggunakan *One-Way* ANOVA. Ekstrak akuades kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, dan saponin. Hasil analisis data mendapatkan nilai sig.  $0,00 \leq 0,05$ . Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dengan masing-masing konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan *E.coli* dan *S. aureus* adalah 2,5% dan 8%.

**Kata kunci :** Aktivitas antibakteri, Kulit batang, *Averrhoa bilimbi* L., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

## ***ABSTRACT***

### **Effectiveness of Inhibitory Power of *Averrhoa bilimbi* L. Stem Bark Extract against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Causes of Diarrhea**

JADE SEPTIMORANIE

Diarrhea in common is a digestive disorder with an exceptionally high mortality rate for children under five. One of the leading causes of diarrhea is infection from viruses, bacteria, and fungi. Some bacteria that have a sizeable percentage in the feces of people with diarrhea are *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Antibiotics endure the solitary way to prevent diarrhea, but it causes resistance to bacteria. Therefore, another prevention method is needed, namely using natural ingredients such as starfruit bark. The bark of Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) is traditionally managed as a medicine because it is identified to contain flavonoids, saponins, alkaloids, and phenolic compounds, which may prevent the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The purpose of this study was to determine the inhibition power of *Averrhoa bilimbi* L. stem bark extract on the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The research method used was the extraction process using the decoction method with aquadest solvent. The antibacterial activity test of the starfruit bark against *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus* using the Kirby-Bauer disc diffusion method and the minimum inhibitory concentration (MIC) test using the microdilution method. Data analysis was performed using One-Way ANOVA. Aqua extract of *Averrhoa bilimbi* L. stem bark contains phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, and saponins. The results of data analysis get the sig value.  $0.00 \leq 0.05$ . The results of this study indicate the bark of the *Averrhoa bilimbi* L. can inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with the lowest concentrations that can inhibit growth, respectively, of 2.5% and 8%.

**Keyword :** Antibacterial activity, Bark, *Averrhoa bilimbi* L., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diare merupakan salah satu penyakit pencernaan yang memiliki tingkat kematian balita yang tinggi. Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, sebanyak 314 anak balita dari 34 provinsi di Indonesia meninggal dunia akibat diare. Penyakit ini biasanya disebabkan karena gaya hidup yang tidak sehat sehingga mengakibatkan terjadinya infeksi pencernaan dari bakteri, virus, dan jamur. Beberapa bakteri penyebab diare ialah *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, dan *Yersinia enterocolitica*. Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki persentase yang tinggi dibandingkan dengan bakteri lain yang berada pada feses penderita penyakit diare (Nan-Ok Kim *et al.*, 2015).

Diare biasanya dicegah dengan penggunaan antibiotik. Namun antibiotik dapat menyebabkan terjadinya resistensi mikrobia. Oleh karena itu diperlukan pencegahan lain yaitu menggunakan bahan alami sebagai antibakteri. Salah satu bahan yang dimungkinkan dapat menjadi pencegah penyakit diare ialah kulit batang Belimbing Wuluh.

Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu tanaman daerah dataran rendah dan daerah pegunungan yang tidak sulit ditemukan pada daerah tersebut. Daun, bunga, batang, buah, dan akar tanaman Belimbing Wuluh kerap dikonsumsi oleh masyarakat. Buah Belimbing Wuluh biasanya dimanfaatkan sebagai bumbu masakan, ramuan jamu, dan sebagai bahan obat-obatan. Tidak hanya pada bagian buah saja namun pada bagian kulit batang Belimbing Wuluh juga biasanya dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional. Berdasarkan Muhtadi *et al.* (2012), kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. memiliki kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik yang dimungkinkan dapat mencegah pertumbuhan dari

*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui kandungan yang terdapat pada ekstrak rebusan kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. serta ingin mengetahui kemampuan ekstrak tanaman ini sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Senyawa aktif apa yang terkandung dalam kulit batang *Averrhoa bilimbi* L.?

1.2.2 Apakah ekstrak akuades kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.2.3 Berapa diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L.?

1.2.4 Berapa konsentrasi minimum ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

## 1.3 Hipotesis

Dari penelitian ini, hipotesis yang dapat diuji adalah

Ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## 1.4 Tujuan Penelitian

### 1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui daya hambat ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. pada pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

- 1.4.2.1 Untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada ekstrak akuades kulit batang *Averrhoa bilimbi* L..
- 1.4.2.2 Mengetahui kemampuan penghambatan ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
- 1.4.2.3 Mengetahui diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L..
- 1.4.2.4 Mengetahui konsentrasi minimum ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **1.5 Manfaat**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat luas untuk mengetahui bahwa kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini juga diharapkan agar ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat digunakan sebagai biofarmaka yang bisa diaplikasikan sebagai pencegah diare.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

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

#### 2.1.1 Klasifikasi Ilmiah *Averrhoa bilimbi* L.

Klasifikasi dari tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yaitu (Lisnawati dan Prayoga, 2020):

|               |                              |
|---------------|------------------------------|
| Kingdom       | : Plantae                    |
| Superdivision | : Spermatophyta              |
| Division      | : Magnoliophyta              |
| Class         | : Magnoliopsida              |
| Subclass      | : Rosidae                    |
| Order         | : Geraniales                 |
| Family        | : Oxalidaceae                |
| Genus         | : <i>Averrhoa</i> Adans.     |
| Species       | : <i>Averrhoa bilimbi</i> L. |

#### 2.1.2 Morfologi Tanaman *Averrhoa bilimbi* L.



Gambar 2.1 Pohon Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Tanaman Belimbing Wuluh ini terdiri dari batang, bunga, daun, buah, dan akar yang sering dimanfaatkan sebagai bahan pelengkap makanan dan juga sebagai bahan obat tradisional (Lisnawati dan Prayoga, 2020). Morfologi pada bagian batang utama ialah berukuran

pendek dan memiliki percabangan *sympodial*; bunga Belimbing Wuluh ini merupakan bunga malai yang berkelompok, berwarna ungu kemerahan dan memiliki ukuran yang kecil; buah dari tanaman ini adalah buah buni yang berbentuk bulat lonjong bersegi dan memiliki warna hijau (Hasnunidah dan Wiono, 2019).

### 2.1.3 Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L.

Kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. merupakan bagian dari tanaman Belimbing Wuluh yang banyak dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional. Ekstrak etanol kulit batang Belimbing Wuluh memiliki kandungan senyawa steroid saponin, alkaloid, dan triterpen saponin. Ekstrak Fraksi n-heksan kulit batang Belimbing Wuluh mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin. Ekstrak fraksi etil asetat batang Belimbing Wuluh mengandung senyawa steroid, alkaloid, dan flavonoid (Muhtadi *et al.*, 2012). Menurut Siddique *et al.* (2013), ekstrak metanol kulit batang Belimbing Wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Gram positif dan Gram negatif) dan jamur, seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Vibrio mimicus*, dan *Candida albicans*. Kandungan senyawa yang dimiliki ekstrak metanol kulit batang Belimbing Wuluh ialah flavonoid, alkaloid, dan saponin.

## 2.2 Diare

Diare adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri sehingga meningkatkan pengeluaran feses yang lebih cair atau lebih lunak. Penyakit ini menyebabkan tingkat kematian yang tinggi di Indonesia. Penyebab dari diare antara lain adanya infeksi virus, bakteri, dan jamur; malabsorpsi; alergi; serta keracunan (Anggreli *et al.*, 2015). Menurut hasil penelitian Nan-Ok Kim *et al.* (2015), feses pasien penderita penyakit diare mengandung bakteri seperti *Salmonella* spp (13,5%), *Escherichia coli* (22,0%), *Vibrio parahaemolyticus* (0,74%), *Shigella* spp., (0,37%) *Campylobacter* spp.

(6,10%), *Clostridium perfringens* (14,4%), *Staphylococcus aureus* (32,4%), *Bacillus cereus* (10,1%), *Listeria monocytogenes* (0,03%), dan *Yersinia enterocolitica* (0,3%).

## 2.3 *Escherichia coli*

### 2.3.1 Klasifikasi *Escherichia coli*

Klasifikasi dari *Escherichia coli* yaitu (Lisnawati dan Prayoga, 2020):

|         |                           |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Bacteria                |
| Phylum  | : Proteobacteria          |
| Class   | : Gammaproteobacteria     |
| Order   | : Enterobacteriales       |
| Family  | : Enterobacteriaceae      |
| Genus   | : <i>Escherichia</i>      |
| Species | : <i>Escherichia coli</i> |

### 2.3.2 Karakteristik *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan panjang 2  $\mu\text{m}$ , diameter 0,5  $\mu\text{m}$ , dan volume selnya berkisar 0,6-0,7  $\text{m}^3$ . *Escherichia coli* memiliki suhu optimal yaitu 37°C, namun dapat hidup pada suhu yang berkisar 20-40°C. Pada usus manusia *Escherichia coli* memiliki fungsi untuk menekan pertumbuhan dari bakteri jahat dan bakteri ini juga berperan dalam membantu proses pencernaan makanan, namun apabila bakteri *Escherichia coli* ini terdapat dengan jumlah yang banyak maka akan mengakibatkan diare (Sutiknowati, 2016).

## 2.4 *Staphylococcus aureus*

### 2.4.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* yaitu (Lisnawati dan Prayoga, 2020):

Divisio : Protophyta  
Class : Schizomycetes  
Ordo : Eubacteriales  
Famili : Micrococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Spesies : *Staphylococcus aureus*

### 2.4.2 Karakteristik *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* merupakan bakteri patogen berbentuk bulat seperti uantaian anggur, bakteri Gram positif ini memiliki diameter 0,75-1,25  $\mu\text{m}$ . Suhu optimal *Staphylococcus aureus* berkisar 28-38°C, dengan pH optimal adalah 7,0-7,5 (Lisnawati dan Prayoga, 2020). Dinding sel pada *Staphylococcus aureus* memiliki banyak peptidoglikan, sedikit lipid, dan juga terdapat polisakarida (Dwicahyani *et al.*, 2018).

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada Oktober 2020 hingga Januari 2021. Lokasi penelitian ini bertempat di Laboratorium Bioteknologi Dasar, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana.

#### **3.2 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah autoklaf, panci, timbangan digital, sendok, *rotary evaporator*, saringan, tabung reaksi, erlenmeyer, rak tabung reaksi, bunsen, gelas beker, gelas ukur, *object glass*, pipet tetes, mikroskop, *micropipette*, jarum ose, penggaris, *petridish*, pinset, *96 microwell plate*, inkubator, dan *microplate reader*.

#### **3.3 Bahan**

Bahan yang digunakan kertas perkamen, karet, kulit batang Belimbing Wuluh, akuades, n-heksan, etanol 96%, HCl pekat, HCl 2N, Mayer, Wagner, kristal violet, lugol, aseton alkohol, safranin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, ciprofloxacin, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* FNCC 0047, kertas cakram, *cotton swab* steril, etanol 90%, *micro wellplate*, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), *Blood Agar Plate* (BAP), *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan *Brain Heart Infusion* (BHI).

#### **3.4 Cara Kerja**

##### **3.4.1 Pensterilan Alat dan Bahan**

Alat dan bahan yang digunakan dalam pengujian antibakteri serta yang perlu dilakukan sterilisasi. Pertama, dicuci hingga bersih dan dikeringkan. Alat dan bahan di bungkus terlebih dahulu dengan menggunakan kertas perkamen, lalu sterilisasi dengan menggunakan



autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C (Ngantung *et al.*, 2016).

### **3.4.2 Ekstraksi Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L.**

Pembuatan ekstrak kulit batang Belimbing Wuluh dilakukan melalui metode dekoktasi termodifikasi. Sebanyak 300 g kulit batang Belimbing Wuluh basah ditimbang dengan timbangan digital dan dimasukkan ke dalam panci. Tambahkan 1800 mL akuades steril dan 200 mL akuades ekstra, kemudian rebus selama 30 menit terhitung setelah suhu mencapai  $\pm 65^{\circ}\text{C}$  sambil sekali-sekali diaduk, hasil rebusan disaring menggunakan saringan. Ampas yang ada kemudian kembali dipanaskan dengan perbandingan akuades dan cara yang sama. Seluruh pelarut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga kental (Saputri, 2011; Sukmawati, 2013; Endarini, 2016).

### **3.4.3 Skrining Fitokimia**

Ekstrak kulit batang Belimbing Wuluh yang telah diperoleh diuji secara kualitatif untuk mengetahui senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenol.

#### **3.4.3.1 Uji Flavonoid**

Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, sebanyak 5 mL etanol 96% ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan kemudian dibagi menjadi 2 bagian (A1 dan A2). Untuk blanko ditunjukkan dengan larutan A1 dan untuk larutan A2 ditambahkan 0,5 mL HCl pekat dan 0,1 g Mg ditambahkan. Apabila pada larutan A2 terjadi perubahan warna menjadi jingga/merah, dengan ini menunjukkan bahwa larutan tersebut memiliki kandungan senyawa flavonoid (Ergina *et al.*, 2014).

### **3.4.3.2 Uji Saponin**

Sebanyak 0,3 g ekstrak ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 5 mL akuades. Kocok larutan dengan kuat selama 30 detik. Jika pada larutan terbentuk busa dengan stabil selama lebih dari 30 detik, dengan begini dapat dinyatakan bahwa larutan ekstrak memiliki kandungan senyawa saponin (Harborne, 1987 dalam Arvinandita, 2019).

### **3.4.3.3 Uji Alkaloid**

Sebanyak 0,3 g ekstrak ke dalam tabung reaksi dan sebanyak 5 mL HCl 2N ditambahkan, dipanaskan sembari diaduk selama 2-3 menit. Dinginkan larutan, lalu sebanyak 0,3 g NaCl dan 5 mL HCl 2N ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Larutan dibagi menjadi 3 bagian (B1, B2, dan B3). Blanko ditunjukkan pada larutan B1. Sebanyak 3 tetes pereaksi Mayer ditambahkan pada larutan B2 dan sebanyak 3 tetes pereaksi Wagner ditambahkan pada larutan B3. Apabila pada larutan terdapat endapan atau memperlihatkan hasil yang keruh, dengan ini menunjukkan bahwa pada ekstrak memiliki kandungan senyawa alkaloid (Harborne, 1987 dalam Arvinandita, 2019).

## **3.4.4 Uji Total Fenol**

### **3.4.4.1 Uji Asam Galat**

Serbuk asam galat sebanyak 50 mg ditimbang, kemudian dilarutkan dengan 1 mL etanol 96% dan ditambahkan 49 mL akuades. Larutan asam galat diambil 1 mL; 1,25 mL; 1,5 mL; 1,75 mL; dan 2 mL kemudian

dilarutkan kembali dengan akuades hingga larutan mencapai 10 mL sehingga mendapatkan konsentrasi 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 175  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , dan 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Pada setiap konsentrasi diambil sebanyak 0,2 mL dan ditambahkan 15,8 mL akuades. Pada setiap konsentrasi ditambahkan 1 mL Folin-ciocalteu dan digojok, kemudian didiamkan selama 8 menit.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% ditambahkan ke dalam larutan disetiap konsentrasi sebanyak 3 mL dan didiamkan selama 2 jam. Larutan setiap konsentrasi diukur absorbansi dengan menggunakan panjang gelombang 765 nm dan dibuat kurva kalibrasi konsentrasi antara konsentrasi asam galat sebagai sumbu x dengan absorbansi sebagai sumbu y (Marjoni *et al.*, 2015).

#### 3.4.4.2 Uji Total Fenol Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L.

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 g dan dilarutkan ke dalam akuades hingga larutan mencapai 10 mL. Larutan ekstrak kemudian diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan kembali dengan akuades hingga 10 mL. Larutan ekstrak diambil 0,2 mL dan ditambahkan dengan 15,8 mL akuades. Folin-ciocalteu ditambahkan sebanyak 1 mL kedalam larutan dan digojok hingga homogen.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10% ditambahkan ke dalam larutan sebanyak 3 mL dan didiamkan selama 2 jam. Larutan diukur absorbansi menggunakan panjang gelombang 765 nm (Marjoni *et al.*, 2015).

Rumus perhitungan total fenol:

$$\text{TPC} = \frac{C \times V \times fp}{g}$$

### 3.4.5 Pembuatan Seri Konsentrasi

Larutan uji terbagi menjadi 4 konsentrasi (80%, 60%, 40%, dan 20%). Konsentrasi 80% didapatkan melalui 800 mg ekstrak ditambahkan dengan akuades hingga mencapai 1 mL. Konsentrasi 60% didapatkan dengan cara 600 mg ekstrak ditambahkan dengan akuades hingga 1 mL. Konsentrasi 40% didapatkan dengan cara 400 mg ditambahkan dengan akuades hingga 1 mL. 200 mg ekstrak ditambahkan dengan akuades hingga 1 mL maka didapatkan konsentrasi 20% (Muhtadi, 2012).

### 3.4.6 Uji Aktivitas Daya Hambat Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L. Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

#### 3.4.6.1 Re-kultur Bakteri

Bakteri patogen *stock* diambil dengan menggunakan ose. Bakteri dikulturkan pada media BAP untuk *Staphylococcus aureus* FNCC 0047 dan media EMBA untuk *Escherichia coli* ATCC 25922. Bakteri diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 hingga 48 jam.

#### 3.4.6.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan menggunakan 4 cat Gram yaitu kristal violet, lugol program, aseton alkohol, dan safranin. *Object glass* dibersihkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Akuades steril dioleskan diatas *object glass* dan bakteri digoreskan atau dicampurkan dengan aquadest steril yang telah ditetaskan di atas *glass object*, setelah itu difiksasi hingga kering. Kristal violet ditetaskan diatas sediaan dan didiamkan selama 2 menit, dengan menggunakan akuades mengalir sediaan dicuci. Lugol program ditetaskan secara merata ke atas sediaan dan kemudian didiamkan selama 1 menit, dengan menggunakan

akuades mengalir sediaan dicuci. Cat Gram yang ketiga yaitu aseton alkohol ditetesi secara merata diatas sediaan dan didiamkan selama 10 detik, kemudian dicuci dengan menggunakan akuades mengalir. Terakhir safranin ditetaskan diatas sediaan dan didiamkan selama 30 detik, setelah itu dicuci dengan akuades steril dan dikeringkan. Sebelum dilihat dibawah mikroskop, sediaan ditetaskan minyak emersi. Morfologi bakteri dilihat dengan perbesaran 1000x di bawah mikroskop (Prasetya *et al.*, 2019).

#### **3.4.6.3 Uji Katalase**

Larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% (hidrogen peroksida) ditetaskan di atas *object glass*. Bakteri digoreskan dengan menggunakan ose di atas *object glass* yang telah berisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dan dicampur. Apabila suspensi menghasilkan gelembung udara, ini menandakan bakteri mengandung enzim katalase atau hasil dinyatakan positif (Hadioetomo, 1990 dalam Dewi, 2013).

#### **3.4.6.4 Re-suspensi Bakteri**

Pembuatan modifikasi suspensi *E. coli* dan *S. aureus* dengan cara pada 2 tabung reaksi, masing-masing tabung dimasukkan 5 mL BHI. Pada masing-masing tabung reaksi dicampurkan dengan 1 ose *E. coli* (tabung1) dan *S. aureus* (tabung 2) kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam. Hasil suspensi dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi steril dan setelah itu di-*sentrifuse* dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan diganti dengan aquadest steril, setelah itu divorteks. Suspensi diambil dengan mikropipet dan dicampurkan ke dalam akuades steril, setelah itu suspensi disesuaikan

standard *Mc. Farland* 0,5 (Rieuwpassa *et al.*, 2013; Sopiah *et al.*, 2017).

### 3.4.6.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri Kulit Batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap *Escherichia coli* atau *Staphylococcus aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* menggunakan teknik apus. Bakteri patogen dikulturkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah di sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah steril dituangkan ke dalam petridish dan setelah itu oleskan bakteri *Escherichia coli* atau *Staphylococcus aureus* pada seluruh permukaan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan menggunakan *cotton swab* steril. Kertas cakram dimasukkan atau dicelupkan ke dalam larutan sampel (Kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%) hingga merata pada seluruh permukaan cakram, lalu cakram diletakkan pada media yang telah ditanami bakteri dengan menggunakan pinset. Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Diameter zona bening diukur dengan penggaris (Ayen *et al.*, 2017).

Tabel 3.1 Kategori Zona Hambat Antibakteri (Davis dan Stout, 1971 dalam Rastina *et al.*, 2015)

| No | Diameter Zona Hambat (mm) | Daya Antibakteri |
|----|---------------------------|------------------|
| 1  | > 20                      | Sangat Kuat      |
| 2  | 10–20                     | Kuat             |
| 3  | 5–10                      | Sedang           |
| 4  | ≤ 5                       | Lemah            |

### 3.4.7 Uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) *Escherichia coli*

Metode mikrodilusi modifikasi digunakan dalam uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) *Escherichia coli*. 96 *micro wellplate* digunakan seluruhnya dan diisi dengan 70  $\mu\text{L}$  media *Brain Heart Infusion*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam uji MIC ini ialah 30%; 27,5%; 25%; 22,5%; 20%; 17,5%; 15%; 12,5%; 10%; 7,5%; 5%; dan 2,5%, setiap *well* diisi masing-masing konsentrasi sebanyak 70  $\mu\text{L}$ . Konsentrasi ekstrak dengan kategori sedang dihomogenkan bersama media, setelah itu isi *well* dengan suspensi *E.coli* yang telah disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 10  $\mu\text{L}$ . Kontrol positif (6 sumuran) menggunakan *ciprofloxacin* yang diisi sebanyak 70  $\mu\text{L}$ , media serta *ciprofloxacin* yang telah ditambahkan kemudian dihomogenkan dan ditambahkan suspensi *E.coli* yang telah disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 10  $\mu\text{L}$ . Kontrol negatif (6 sumuran) menggunakan akuades sebanyak 70  $\mu\text{L}$  dan kemudian dihomogenkan, lalu ditambahkan juga suspensi *E.coli* yang telah disetarakan dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 10  $\mu\text{L}$ . Diinkubasi selama 12 hingga 24 jam dengan suhu 37°C dan setelah itu diamati menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 625 nm (Safitri *et al.*, 2019; Prakasita *et al.*, 2019; Maulana *et al.*, 2020).

### 3.4.8 Uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) *Staphylococcus aureus*

Uji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) dengan menggunakan metode modifikasi mikrodilusi. Pada uji ini menggunakan 80 *micro wellplate* yang tiap *well* diisi dengan 70  $\mu\text{L}$  media BHI. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 8%; 16%; 24%; 32%; 40%; 48%; 56%; 64%; 72%; dan 80%, ekstrak dimasukkan ke dalam *well* sebanyak 70  $\mu\text{L}$ , lalu dihomogenkan dengan media BHI

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diare merupakan salah satu penyakit pencernaan yang memiliki tingkat kematian balita yang tinggi. Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, sebanyak 314 anak balita dari 34 provinsi di Indonesia meninggal dunia akibat diare. Penyakit ini biasanya disebabkan karena gaya hidup yang tidak sehat sehingga mengakibatkan terjadinya infeksi pencernaan dari bakteri, virus, dan jamur. Beberapa bakteri penyebab diare ialah *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, dan *Yersinia enterocolitica*. Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* memiliki persentase yang tinggi dibandingkan dengan bakteri lain yang berada pada feses penderita penyakit diare (Nan-Ok Kim *et al.*, 2015).

Diare biasanya dicegah dengan penggunaan antibiotik. Namun antibiotik dapat menyebabkan terjadinya resistensi mikrobia. Oleh karena itu diperlukan pencegahan lain yaitu menggunakan bahan alami sebagai antibakteri. Salah satu bahan yang dimungkinkan dapat menjadi pencegah penyakit diare ialah kulit batang Belimbing Wuluh.

Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu tanaman daerah dataran rendah dan daerah pegunungan yang tidak sulit ditemukan pada daerah tersebut. Daun, bunga, batang, buah, dan akar tanaman Belimbing Wuluh kerap dikonsumsi oleh masyarakat. Buah Belimbing Wuluh biasanya dimanfaatkan sebagai bumbu masakan, ramuan jamu, dan sebagai bahan obat-obatan. Tidak hanya pada bagian buah saja namun pada bagian kulit batang Belimbing Wuluh juga biasanya dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional. Berdasarkan Muhtadi *et al.* (2012), kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. memiliki kandungan flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik yang dimungkinkan dapat mencegah pertumbuhan dari



*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui kandungan yang terdapat pada ekstrak rebusan kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. serta ingin mengetahui kemampuan ekstrak tanaman ini sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Senyawa aktif apa yang terkandung dalam kulit batang *Averrhoa bilimbi* L.?

1.2.2 Apakah ekstrak akuades kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

1.2.3 Berapa diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan oleh ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L.?

1.2.4 Berapa konsentrasi minimum ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?

## 1.3 Hipotesis

Dari penelitian ini, hipotesis yang dapat diuji adalah

Ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

## 1.4 Tujuan Penelitian

### 1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui daya hambat ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. pada pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

- 1.4.2.1 Untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada ekstrak akuades kulit batang *Averrhoa bilimbi* L..
- 1.4.2.2 Mengetahui kemampuan penghambatan ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
- 1.4.2.3 Mengetahui diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L..
- 1.4.2.4 Mengetahui konsentrasi minimum ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. yang mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **1.5 Manfaat**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat luas untuk mengetahui bahwa kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini juga diharapkan agar ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat digunakan sebagai biofarmaka yang bisa diaplikasikan sebagai pencegah diare.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. memiliki kandungan senyawa aktif yaitu fenol, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Hasil uji daya hambat *E. coli* dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* menghasilkan diameter zona hambat pada ekstrak konsentrasi 20% sebesar  $10,00 \pm 0,00$  mm, dilanjutkan uji MIC dan pada ekstrak konsentrasi 2,5% mendapat hasil OD  $0,1413 \pm 0,0155$ . Uji daya hambat pada *S. aureus* tidak terlihat adanya zona hambat yang terbentuk dari seluruh konsentrasi sehingga dilanjutkan uji MIC dan memberikan hasil pada konsentrasi terkecil 8% dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan nilai OD  $0,0233 \pm 0,0404$ . Hasil dari analisis statistik *One-Way ANOVA*, menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* secara signifikan ( $P \leq 0,05$ ).

#### 5.2. Saran

- 5.2.1 Adanya kandungan total fenolik yang terdapat pada kulit batang *Averrhoa bilimbi* L. dapat dilakukan uji antioksidan.
- 5.2.2 Hasil uji aktivitas antibakteri dan uji MIC dapat dilanjutkan uji *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) dan uji *Colony-forming Unit* (CFU).
- 5.2.3 Dapat dilakukan uji lanjutan seperti uji klinis untuk dapat dijadikan sebagai produk biofarmaka pencegah penyakit diare.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggreli, C.A., Anggraini D., dan Savira M. 2015. Gejala Penyerta Pada Balita Diare Infeksi *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC) Di Puskesmas Rawat Inap Kota Pekanbaru. *JOM FK*; 2:1–7.
- Arivo D. dan Dwiningtyas A.W. 2017. Uji Sensitivitas ANtibiostatik terhadap *Escherichia coli* Penyebab Infeksi Saluran Kemih. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*; 4: 216–225.
- Ariyanti D., Salasia S.I.O., dan Tato S. 2011. Characterization of Haemolysin of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food of Animal Origin. *Indonesian Journal of Biotechnology*; 16: 32–37.
- Arvinandita A. 2019. Potensi Berbagai Ekstrak Tanaman Kelas Magnoliopsida sebagai Agen Antibakteri pada Sediaan *Foot Lotion* Pencegah Bau Kaki [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta. [Indonesia]
- Ayen R.Y., Rahmawati, dan Mukarlina. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambut (*Mikania micrantha* H.B.K) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* IHB B 379 dan *Shigella flexneri*. *Jurnal Protobiont*; 6:123–129
- Baharuddin M. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*; 8:23–28.
- Daruwati I., Agustine M., Sriyani M.E., Halimah I., Sugiharti R.J., dan Leswara N.D. 2014. Penentuan Tangkapan Radiofarmaka <sup>99m</sup>Tc-Siprofloksasin terhadap *Ciprofloxacin-Resistant Escherichia coli* dan *Ciprofloxacin-Resistant Staphylococcus aureus*. *Radiosdotop, Radiofarmaka, Siklotron, dan Kedokteran Nuklir*.
- Davis, W.W. and T.R Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Journal Microbiology*; 4:659-665.
- Dewi A.K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Masitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sain Veteriner*; 2: 138–150.
- Dwicahyani T., Sumardianto, dan Rianingsih L. 2018. Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*; 7:15–24.
- Endarini L.H. 2016. *Farmakognisi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan.

- Ergina, Nuryanti S., dan Pursitasari I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademia Kimia*; 3:165–172.
- Gayathiri E., B. Bharathi, dan K. Priya. 2018. Study of the Enumeration of Twelve Clinical Important Bacterial Populations at 0,5 McFarland Standard. *International Journal of Creative Research Thoughts*; 6: 880–893.
- Hadi D. K., Erina, Rinidar, Fakhurrazi, Rosmaidar, dan Arman S. 2019. Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*; 2: 87–97.
- Hadioetomo, R.S. 1990. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktik Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: PT Gramedia.
- Harijani N., Rahadi U.S.E., dan Nazar D.S. 2013. Isolasi *Escherichia coli* pada Daging yang Diperoleh dari Beberapa Pasar Tradisional di Surabaya Selatan. *Jurnal Veterinaria Medika*; 6: 39–44.
- Hasnunidah N. dan Wiono W.J. 2019. *Botani Tumbuhan Tinggi*. Bandar Lampung: Graha Ilmu.
- Ih H., Fajriaty I., Rahmawani S.P., dan Abdurrachman. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Herba Pacar Air; Seminar Nasional Pendidikan MIPA dan Teknologi IKIP PGRI Pontianak. PGRI, Pontianak, 14 Oktober 2017. [Indonesian]
- Januarti I. B., Wijayanti R., Wahyuningsih S., dan Nisa Z. 2019. Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz&Pav) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*; 2:60–68.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. *Profil Kesehatan Indonesia 2018*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Krihariyani D., Woelansari E. D., dan Kurniawan E. 2016. Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, AB, dan Darah Domba sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*; 3:191–200.
- Lisnawati N. dan Prayoga T. 2020. *Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L)*. Surabaya: Jakad Media Publishing.
- Manik D.F., Hertiani T., dan Anshory H. 2014. Analisis Korelasi Antara Kadar Flavonoid Dengan Aktivitas ANTibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Kersen. *Khazanah*; 6:1–11.

- Maradesa S., Lawalata H. J., dan Tengker A. 2020. Analisis Kandungan Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Sumur Gali di Kecamatan Lirung Kabupaten Kepulauan Talaud. *Jurnal Sains, Matematika, dan Edukasi*; 8:159–166.
- Marjoni M.R., Afrinaldi, dan Novita A.D. 2015. Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Kedokteran YARSI*; 23: 187–196.
- Maulana I.A., Triatmoko B., dan Nugraha A.S. 2020. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas ANTibakteri Ekstrak dan Fraksi Tanaman Senggugu (*Rotheca serrata* L.) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of pharmaceutical Science and Clinical Research*; 1:1–11.
- Mc Farland, J. 1907. The negelometer: an instrument forestimating the numbers of bacteria in suspensions used forcalculating the opsonic index for vaccine. J. Am. Med. Assoc. 49:1176–1178.
- Muhtadi, Ambarwati R., dan Yuliani R. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis* Beserta Bioautografinya. *Jurnal Biomedika*; 4:1–9.
- Nan-Ok K., Su-Mi J., Hae-Young N., Gyung T.C., Cheon-Kwon Y., Won Keun S., dan Sahyun H. 2015. Enteric Bacteria Isolated from Diarrheal Patients in Korea in 2014. *Osong Public Health Res Perspect*; 6:233–240.
- Ngajow M., Abidjulu J., dan Kamu V.S. 2013. Pengaruh ANTibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*. *Jurnal MIPA Unsrat Online*; 2: 128–132.
- Ngantung A.E.C., Sumilat D.A., dan Bara R.A. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Dari Spons *Dictyonella funicularis* dan *Phyllospongia lamellose* yang Diambil Pada Perairan Bunaken. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*; 2:10–16.
- Nurzaman F., Djajadisastra J., dan Elsyia B. 2018. Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*; 8:85–93.
- Prakasita V.C., Asmara W., Widyarini S., dan Wahyuni A.E.T.H. 2019. Combinations of Herbs and Probiotics As An Alternative Growth Promoter: An In Vitro Study. *Vesterinary World*; 12:614–620.
- Prasetya Y.A., Winarsih I.Y., Pratiwi K.A., Hartono M.C., dan Rochimah D.N. 2019. Deteksi Fenotipik *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta-lactamases* (ESBLs) pada Sampel Makanan Di Krian Sidoarjo. *Life Science*; 1: 75–85.

- Rastina, Sudarwanto M., dan Wientarsih I. 2015. Aktivitas ANTibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. *Jurnal Kedokteran Hewan*; 9: 185–188.
- Rieuwpassa I. E., Hamrun N., Lukman St. R., S. Reski Y., dan Ramadhani S. 2013. Ekstrak Buah Kaktus Pir Berduri Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus mutans*, dan *Candida albicans*. *Jurnal Dentofasial*; 12:139–143.
- Rollando R., Prasetyo Y.S.A., dan Sitepu R.. 2019. Uji Antimikrobia Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*; 2:52–57.
- Rompas Y., Rampe H.L., dan Rumondor M.J. 2011. Struktur Sel Epidermis dan Stomata Daun Beberapa Tumbuhan Suku Orchidaceae. *Jurnal Bioslogos*; 1: 13–19.
- Safitri N.A., Dewi S.S., dan Wardoyo F.A. 2019. Aktivitas Ekstrak Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) Terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Prosiding Mahasiswa Seminar Nasional Unimus*; 2:76–82.
- Sam S., Malik A., dan Handayani S. 2016. Penetapan Kadar Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Bunga Rosella Berwarna Merah (*Hibiscus sabdaiiffa* L.) dengan Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*; 3: 187–187.
- Saputri A.A.D.A. 2011. Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Air Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn.) dengan Ekstrak Etanol 70% Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc.) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan”. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Senet M. R. M., Raharja I. G. M. A. P., Darma I. K. T., Prastakarini K. T., Dewi N. M. A., dan Parwata I. M. O. A. 2018. Penentuan Kandungan Total Flavonoid dan Total Fenol dari Akar Kersen (*Muntingia calabura*) serta Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kimia*; 1: 13–18.
- Siddique K.I., Uddin M.M.N., Islam Md. S., Parvin S., dan Shariar M. 2013. Phytochemical screenings, thrombolytic activity and antimicrobial properties of the bark extracts of *Averrhoa bilimbi*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*; 3:094–096.
- Siregar A.Z. dan Harahap N. 2019. *Strategi dan Teknik Penulisan Karya Tulis Ilmiah dan Publikasi*. Yogyakarta: Deepublish publisher.

- Sopiah S., Arma U., dan B. 2017. Aktivitas Antijamur Ekstrak Buah Pisang Pinang Tua (*Areca catechu* L.) terhadap Jamur *Candida albicans* Pada Pasien Kandidiasis Rongga Mulut. *Jurnal B-Dent*; 4:126–132.
- Sudarmi K., Darmayasa I.B.G, dan Muksin I K. 2017. Uji Fitokimia dan Daya Hambat Ekstrak Daun Juwet (*Syzygium cumini*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ATCC. *Jurnal Simbiosis V*; 2: 47–51.
- Sukmawati V.O. 2013. Daya Antibakteri Dekokta Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) terhadap *Streptococcus mutans* [Skripsi]. Universitas Jember, Jember.
- Sutiknowati L.I. 2016. Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Oseana*; 41:63–71.

©UKDW