

Pengaruh Suhu Pemanasan dan Variasi Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*

Dara Pranidya Tilarso^{1*}, Afidatul Muadifah², Putri Indah Pratiwi³, Mutia Hariani Nurjanah³

¹STIKes Karya Putra Bangsa, Jl. Raya Blitar Tulungagung KM 4, Sumbergempol, Tulungagung

^{*}E-mail: dptilarso@stikes-kartrasa.ac.id

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Diterima

7 Juni 2024

Disetujui

10 Juli 2024

Dipublikasikan

31 Juli 2024

Kata Kunci:

Averrhoa bilimbi L.,

Piper betle,

Staphylococcus aureus,

Escherichia coli,

Hidroekstraksi

Keywords:

Averrhoa bilimbi L.,

Piper betle,

Staphylococcus

aureus, *Escherichia*

coli, *hydroextraction*

Abstrak

Latar belakang Buah belimbing dan daun sirih telah terbukti berkhasiat sebagai antibakteri yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* karena mengandung senyawa sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, dan saponin. **Tujuan:** Mengetahui pengaruh suhu pemanasan dan variasi konsentrasi terhadap aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menggunakan perbandingan 1:2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. **Metode:** Metode hidroekstraksi yang digunakan dengan variasi suhu 40°C, 50°C, 60°C, dan 90°C serta dengan variasi konsentrasi 10%, 50%, dan 100%, serta difusi cakram untuk uji aktivitas bakteri. **Hasil:** Kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki aktivitas daya hambat optimum pada suhu 50°C pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 25,5 mm yang bersifat sangat kuat dan dengan diameter hambat *Escherichia coli* sebesar 22,17 mm yang bersifat kuat. **Simpulan dan saran:** Kombinasi ekstrak buah belimbing dan daun sirih memiliki potensi sebagai antibakteri. Diperlukan uji lanjutan untuk mengetahui senyawa spesifik yang terkandung dalam kombinasi ekstrak.

Abstract

Background: Star fruit and betel leaves have been proven to have antibacterial properties which can inhibit the bacteria *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* because they contain antibacterial compounds, namely flavonoids, tannins, alkaloids, terpenoids, and saponins. **Objectives:** To determine the effect of heating temperature and concentration variations on the antibacterial activity of a combination of starfruit and betel leaf extracts using a ratio of 1:2 against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. **Methods:** To determine the effect of heating temperature and concentration variations on the antibacterial activity of a combination of starfruit and betel leaf extracts using a ratio of 1:2 against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. **Results:** The hydroextraction method used was with temperature variations of 40°C, 50°C, 60°C, and 90°C and with concentration variations of 10%, 50%, and 100%, as well as disk diffusion for bacterial activity testing. **Conclusions and suggestions:** The combination of star fruit extract and betel leaves has antibacterial potential. Further tests are needed to determine the specific compounds contained in the extract combination.

PENDAHULUAN

Sejak awal mula peradaban manusia ruang lingkup kajian bahan alam yaitu manusia dan alam sudah saling berinteraksi. Interaksi ini berupa penemuan kebutuhan dasar hingga pada kebutuhan penunjang lainnya. Ekstrak bahan alam merupakan obat tradisional yang disajikan dari ekstrak atau penyaringan bahan alam yang dapat berupa tanaman obat, binatang, maupun mineral (Najib, 2018).

Indonesia memiliki berbagai macam tanaman yang sebenarnya dapat memberi manfaat tetapi belum dibudidayakan secara khusus. Di antaranya ada belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*). Tanaman tersebut sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) dapat sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Lisnawati & Prayoga, 2020).

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dapat disebut juga belimbing asam merupakan sejenis pohon yang diperkirakan berasal dari kepulauan Maluku (Hasim *et al.*, 2019). Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) merupakan tanaman jenis buah dan obat tradisional. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) mengandung senyawa flavonoid, fenol, alkaloid, dan tanin (Hasim *et al.*, 2019). Daun sirih (*Piper betle*) telah lama diketahui dan digunakan dalam pengobatan sakit gigi, batuk, penyegar, dan lain sebagainya. Bagian-bagian dalam tanaman sirih seperti akar, biji, dan daun berpotensi untuk pengobatan terapi. Bagian yang sering digunakan yaitu daunnya. Didalam daun sirih (*Piper betle*) terdapat sejumlah zat kimia atau bahan alami yang memiliki aktivitas sebagai senyawa antimikroba (Rait *et al.*, 2021). Daun sirih (*Piper betle*) mengandung senyawa minyak atsiri, alkaloid, flavonoid tannin-polifenol, steroid, dan senyawa neolignane (Tandi *et al.*, 2020).

Laporan penelitian Juniasti *et al.* (2015), menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri pada ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Bustanussalam *et al.* (2015) juga menunjukkan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun sirih. Belum pernah dilakukan penelitian dengan kombinasi buah belimbing wuluh dan daun sirih. Tujuan dari penelitian terkait kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih untuk mengetahui aktivitas antibakteri menjadi lebih kuat atau sebaliknya dibandingkan dengan ekstrak tanaman tunggal (Rinawati *et al.*, 2022).

Bakteri yang sering ditemui dalam lingkungan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri patogen yang sering terdapat pada tangan. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif. *Staphylococcus aureus* sering menyebabkan mastitis subklinis maupun mastitis kronis, hal tersebut menyebabkan kejadian mastitis sering dihubungkan dengan infeksi *Staphylococcus aureus* (Ulfah, 2020). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram *negative primer pathogen* yang merupakan penyebab kedua penyakit infeksi setelah

Streptococcus. Escherichia coli dapat menyebabkan meningitis dan menyebabkan kematian pada 20-40% pada bayi yang terinfeksi. Selain meningitis, diare juga merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* (Rait *et al.*, 2021).

Antibiotika merupakan obat untuk pencegahan dan mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Lubis *et al.*, 2019). Antibakteri dapat dibedakan menjadi dua yaitu bakteriostatik yang menekan pertumbuhan bakteri dan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri (Magani *et al.*, 2020). Pemberian antibiotik merupakan pengobatan utama dalam terapi penyakit infeksi bakteri, manfaat dari penggunaan antibiotik tidak perlu diragukan lagi. Penggunaan antibiotik dalam pengobatan untuk manusia dimulai sejak tahun 1940 sehingga pengobatan antibiotik semakin luas dan menyebabkan meluasnya potensi resistensi bakteri (Humaida, 2014). Terjadinya resistensi obat-obatan antibiotik ini dapat disebabkan oleh faktor-faktor pemicu seperti penggunaan antibiotik yang tidak tepat. Timbulnya banyak kasus resistensi terhadap obat-obatan antibiotik ini menyebabkan kebutuhan untuk mencari alternatif antibiotik lain menjadi meningkat, termasuk antibiotik dari tumbuh-tumbuhan berkhasiat obat (Safitri, 2020).

Pada penelitian yang sudah ada menggunakan metode ekstraksi maserasi, sokhlet, dan hidrodistilasi. Tapi pada metode tersebut memerlukan pelarut yang sangat mahal sehingga menghasilkan antibakteri yang efektif. Teknik ekstraksi yang mudah dilakukan yaitu hidroekstraksi menggunakan air panas dengan cara perebusan dan kukusan. Metode hidroekstraksi merupakan cara yang sangat sederhana dan ekonomis sehingga dapat diaplikasikan dengan mudah oleh masyarakat (Rahayu *et al.*, 2016). Metode rebus yaitu menggunakan air dan metode kukus menggunakan uap merupakan metode yang umum dan mudah dilakukan masyarakat. Metode tersebut yang selanjutnya digunakan untuk mengetahui senyawa yang terdapat di bahan alam yang digunakan pada penelitian ini menggunakan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C di rebus dan suhu 90°C di kukus (Budyghifari *et al.*, 2022).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu pemanasan dan variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) pada perbandingan 1 : 2 dengan teknik hidroekstraksi melalui perebusan dan kukusan, sehingga diperoleh hasil ekstraksi yang efektif dan ekonomis sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah beaker glass (Pyrex), termometer, cawan petri, *cotton* steril, gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung, timbangan analitik (Kenko), lampu spiritus, plat tetes, Erlenmeyer (Pyrex), *magnetic stirrer with heather* 79-1, incubator (model DNP *Electro Thermal*

Incubator), lemari pendingin (Sharp). Bahan utama yang digunakan daun sirih, belimbing wuluh, bakteri uji adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Media uji adalah *Nutrient agar* (NA) (Merck), *Nutrient broth* (NB) (Merck). Bahan tambahannya aquadest (Brataco), pereaksi Mayer (Merck), pereaksi Dragendroff (Merck), asam klorida pekat (HCl P) (Merck), Besi (III) Klorida (FeCl₃) (Merck), etil asetat (C₄H₈O₂) (Merck), asam asetat anhidrat (C₄H₆O₃) (Merck), asam sulfat pekat (H₂SO₄) (Merck), asam klorida (HCl) (Merck).

Maserasi

Pada pembuatan ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih yaitu dengan mendapatkan sampel di Desa Bendiljati Wetan, Kecamatan Sumbergempol. Selanjutnya melakukan proses determinasi di Laboratorium Herba Materia Medika Kota Batu, Malang. Setelah mengumpulkan buah belimbing wuluh dan daun sirih, dilanjutkan penyortiran. Ciri buah belimbing wuluh yaitu buah berwarna kuning segar dan tidak ada kerusakan pada buah. Pada daun sirih dipilih daun yang berwarna hijau segar. Sortasi basah dilakukan menggunakan air mengalir, lalu dikeringkan dan dipotong ± 0,5 cm. kemudian bahan ditimbang seberat 100 gram.

Pada metode hidroekstraksi menggunakan air panas dengan cara di rebus dengan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C, lalu pada suhu 90°C dengan cara di kukus. Perlakuan terhadap metode rebus yaitu disiapkan air sebanyak 100 ml lalu dipanaskan pada *waterbath* dengan pengaturan suhu 40°C, 50°C, dan 60°C serta ditambahkan sampel yang sudah dipotong sebanyak 100 gram, tunggu selama ± 30 menit kemudian disaring, pada penyaringan pertama menggunakan plastik kasa dilanjutkan dengan penyaringan kedua menggunakan kertas saring. Perlakuan pada metode kukus yaitu menyiapkan air secukupnya pada dandang yang sudah disiapkan dengan melubangi tutupnya untuk tempat termometer, dimasukkan sampel sebanyak 100 gram, panaskan pada kompor dengan suhu 90°C, tunggu kurang lebih 30 menit hingga didapatkan ekstrak kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring (Farhamzah *et al.*, 2019). Selanjutnya dilakukan uji kandungan senyawa kimia pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih meliputi senyawa flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid di Laboratorium STIKes Karya Putra Bangsa.

Penentuan zona hambat

Pengujian antibakteri diawali dengan pembuatan media *nutrient agar*. Pembuatan media dilakukan dengan menimbang sebanyak 1gr bubuk agar dilarutkan dalam 50 ml aquadest. Campur sampai homogen (berwarna bening), lalu media di sterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Tahap berikutnya yaitu membuat perbandingan ekstrak antara buah belimbing wuluh dan daun sirih yaitu 20:10 mg/mL dengan konsentrasi 10%, 50%, dan 100%, lalu membuat kontrol positif kloramfenikol serta kontrol negatif aquadest.

Tahap selanjutnya menginokulasi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada masing-masing media agar plate secara merata. Setelah itu ditambahkan sebanyak 10 µl konsentrasi ekstrak kombinasi dan 10µl antibiotik serta aquadest masing-masing di kertas cakram yang sudah ditentukan. Bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian diamati dan diukur diameter zona hambatnya. Pengukuran menggunakan jangka sorong, kemudian hasilnya dibandingkan dengan kontrol positif, kontrol negatif, dan nilai klasifikasi diameter zona hambat.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan yaitu program Excel untuk diagram alir dan program *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) untuk uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk*, dan uji homogenitas menggunakan *Levene test* yang dilanjutkan dengan *Oneway Anova* untuk mengamati perbedaan hasil antar suhu.

HASIL PENELITIAN

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan daun sirih (*Piper betle*) memiliki tujuan untuk mengetahui senyawa dari kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih. Hasil uji skrining fitokimia kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Kombinasi Ekstrak Belimbing Wuluh dan Daun Sirih

Golongan Senyawa	Pereaksi	Keterangan	Hasil
Flavonoid	HCl Pekat	Merah	+
Tanin	FeCl ₃	Hijau kehitaman	+
Terpenoid	C ₄ H ₈ O ₂ + C ₄ H ₆ O ₃ + H ₂ HSO ₄	Merah	+
Alkaloid	HCl 2 N + Pereaksi Mayer + Pereaksi Dragendroff	Terdapat endapat	+
Saponin	Air panas + HCl 1N	Busa stabil	+

Hasil skrining fitokimia kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih memiliki kemampuan sebagai antibakteri berasal dari kandungan senyawa yang terdapat di dalamnya yaitu senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja yaitu merusak membran sitoplasma dengan cara menyerang fosfolipid pada membran sitoplasma bakteri, sehingga menyebabkan kebocoran pada membran sitoplasma dan zat-zat yang berfungsi untuk metabolisme sel bakteri terbuang keluar yang mengakibatkan terjadinya kematian pada bakteri (Amanda *et al.*, 2019).

Senyawa tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat enzim reverse transcriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Noventi & Carolia, 2016). Adanya senyawa alkaloid mekanisme penghambatannya yaitu dengan cara

mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan mengganggu sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membrane sel (Retnowati *et al.* 2018).

Senyawa terpenoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yaitu dengan cara bereaksi dengan porin yang terdapat di membrane luar dinding sel bakteri lalu membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Akibat dari rusaknya porin yaitu sel bakteri kekurangan nutrisi dan terhambatnya pertumbuhan bakteri atau mati (Misna & Diana, 2016). Sedangkan senyawa saponin memiliki kandungan molekul yang bersifat hidrofilik dan lipofilik sehingga mampu menurunkan tegangan pada permukaan sel dan permeabilitas membrane menjadi rusak. Gangguan yang terjadi pada permukaan dinding sel dan permeabilitas membrane sel akan menyebabkan kandungan antibakteri lebih mudah masuk ke dalam sel sehingga sel mengalami kematian (Sari *et al.*, 2017).

Aktivitas Antibakteri

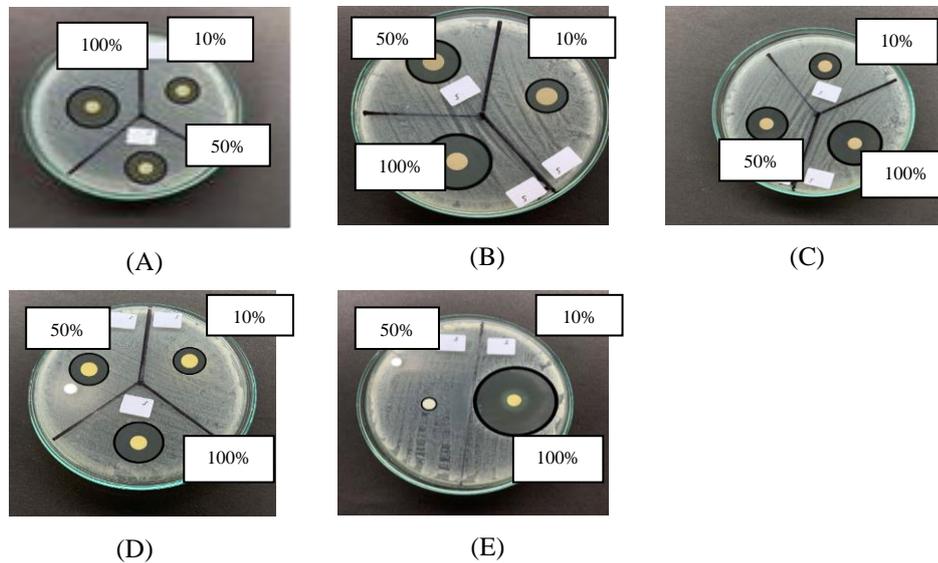
Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan di Kampus STIKes Karya Putra Bangsa, Laboratorium Mikrobiologi, Tulungagung. Uji aktivitas antibakteri pada kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) pada suhu 40°C, 50°C, 60°C dan 90°C menggunakan konsentrasi 10%, 50% dan 100% dengan kloramfenikol sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif. Hasil pengukuran zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki nilai dan kriteria kekuatan antibakteri yang berbeda. Hal tersebut menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih mengandung zat antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Rata-Rata Zona Hambat							
	40°C	Respon Hambat	50°C	Respon Hambat	60°C	Respon Hambat	90°C	Respon Hambat
10%	15,59	K	15,33	K	13,33	K	9,83	S
50%	17,67	K	21	SK	14	K	11	K
100%	20,67	K	25,5	SK	15,33	K	14	K
K+	32,83	SK	32,83	SK	32,83	SK	32,83	SK
K-	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM

Keterangan : TM : Tidak Menghambat; S: Sedang; K: Kuat; SK: Sangat Kuat



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*. (A) Suhu 40°C, (B) Suhu 50°C, (C) Suhu 60°C, (D) Suhu 90°C, (E) Kontrol Uji

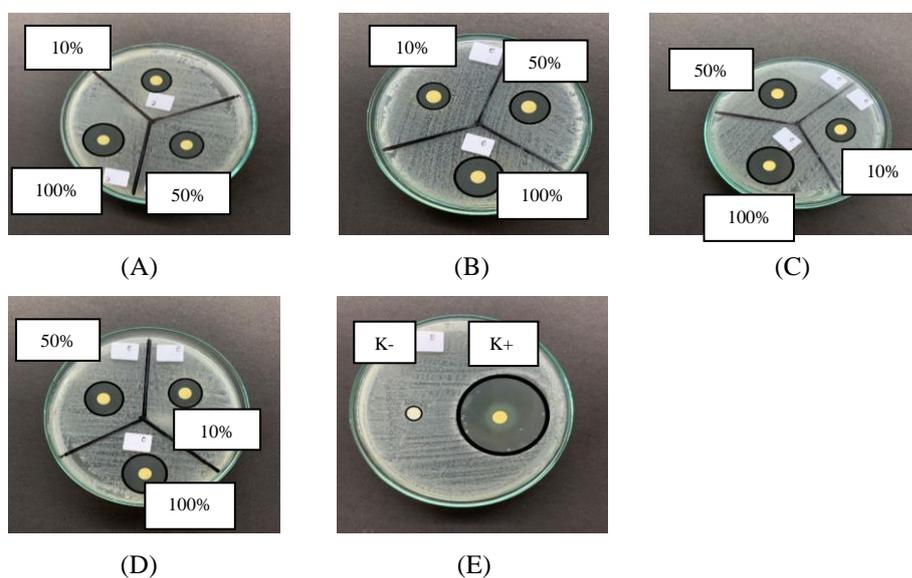
Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa diameter zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki nilai dan kriteria kekuatan antibakteri yang berbeda. Pada suhu 40°C konsentrasi 10%, 50%, dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Pada suhu 50°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kuat serta pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sangat kuat. Pada suhu 60°C konsentrasi 10%, 50%, dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Sedangkan pada suhu 90°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat sedang serta pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat.

Pada Gambar 1 menunjukkan konsentrasi yang memiliki nilai diameter zona hambat yang paling besar yaitu pada suhu 50°C konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat mencapai 25,5 mm sedangkan untuk zona hambat yang paling kecil yaitu terdapat pada suhu 90°C konsentrasi 10% dengan zona hambat mencapai 9,83 mm. Penelitian ini sesuai dengan teori Kulla (2022) yang menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar. Serta sesuai dengan penelitian yang melaporkan bahwa suhu 50°C merupakan suhu optimum dalam metode hidroekstraksi (Tilarso *et al.*, 2021)

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi	Zona Hambat							
	40°C	Respon Hambat	50°C	Respon Hambat	60°C	Respon Hambat	90°C	Respon Hambat
10%	9,83	S	9,33	S	9,83	S	2,5	L
50%	11,33	K	17,5	K	10,67	S	9,17	S
100%	11,83	K	20,17	K	11,33	K	10,67	S
K+	22,17	SK	22,17	SK	22,17	SK	22,17	SK
K-	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM	0,00	TM

Keterangan : TM : Tidak Menghambat; L: Lemah; S: Sedang; K: Kuat; SK: Sangat Kuat



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*. (A) Suhu 40°C, (B) Suhu 50°C, (C) Suhu 60°C, (D) Suhu 90°C, (E) Kontrol Uji

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa diameter zona hambat kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 memiliki nilai dan kriteria kekuatan antibakteri yang berbeda. Pada suhu 40°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang dan pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Pada suhu 50°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang dan pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori kuat. Pada suhu 60°C konsentrasi 10% dan 50% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang dan konsentrasi 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat

kategori kuat. Sedangkan pada suhu 90°C konsentrasi 10% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori lemah dan pada konsentrasi 50% dan 100% menunjukkan rata-rata zona hambat yang termasuk ke dalam respon hambat kategori sedang.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa konsentrasi yang memiliki nilai diameter zona hambat optimum mendekati kontrol positif yaitu pada suhu 50°C konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat mencapai 20,17 mm sedangkan untuk zona hambat yang paling kecil yaitu terdapat pada suhu 90° konsentrasi 10% dengan zona hambat mencapai 2,5 mm. Diameter yang dihasilkan oleh kontrol positif yang terbentuk yaitu 22,17 mm. Hal tersebut disebabkan kloramfenikol yang merupakan antibiotik dengan spektrum yang luas dan juga bersifat bakteriostatik dengan menghambat sintesa protein bakteri Gram positif dan negatif (Kulla & Herrani, 2022). Pada penelitian ini sesuai dengan penelitian Tilarso *et al.* (2022) yang menjelaskan bahwa suhu 50°C merupakan suhu optimum dalam metode hidroekstraksi.

Analisa Data

Uji hipotesa dilanjutkan dengan uji statistik *One Way Anova* karena uji homogenitas dan uji normalitas telah terpenuhi. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata ($p \leq 0,05$) pada rata-rata diameter zona hambat dengan nilai signifikansi $p=0,000$. Dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922.

Pengujian dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Hasil uji *Duncan* pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi berbeda signifikan dan yang mendekati nilai dari kontrol positif adalah konsentrasi 100% dengan nilai sig 25,9 sehingga konsentrasi optimum dari aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah konsentrasi 100%.

Tabel 4. Hasil Uji *Duncan* Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

		Diameter Zona Hambat					
Variasi Konsentrasi		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan ^a	Kontrol Negatif	3	.0000				
	Konsentrasi 10%	3		15.8433			
	Konsentrasi 50%	3			21.5000		
	Konsentrasi 100%	3				25.9433	
	Kontrol Positif	3					32.4767
Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Tabel 5. Hasil Uji *Duncan* Kombinasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh dan Daun Sirih Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

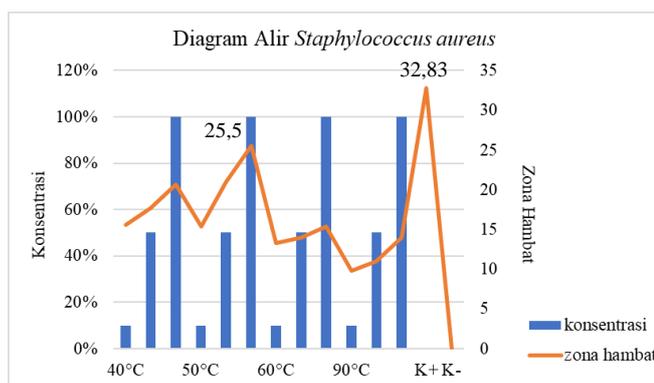
		Diameter Zona Hambat					
	Variasi Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan ^a	Kontrol Negatif	3	.0000				
	Konsentrasi 10%	3		9.4767			
	Konsentrasi 50%	3			17.4433		
	Konsentrasi 100%	3				20.3333	
	Kontrol Positif	3					22.3333
Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Hasil uji *Duncan* pada bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 menunjukkan bahwa variasi konsentrasi bebedda signifikan dan yang mendekati nilai dari kontrol positif adalah konsentrasi 100% dengan nilai sig 20,3 sehingga konsentrasi optimum dari aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 adalah konsentrasi 100%.

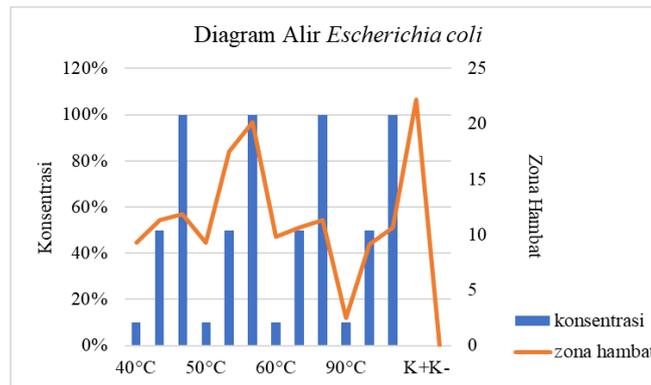
PEMBAHASAN

Hasil pengamatan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan di Kampus STIKes Karya Putra Bangsa, Laboratorium Mikrobiologi, Tulungagung.



Gambar 3. Hasil Diagram Alir *Staphylococcus aureus*

Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa zona hambat optimum dihasilkan pada konsentrasi 100% suhu 50°C dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Pada suhu 40°C dan 50°C memiliki zona hambat yang sama besar, dikarenakan senyawa yang terdapat pada buah belimbing wuluh dan daun sirih dapat ditarik dengan baik pada suhu di bawah 60°C. Sedangkan pada suhu 60°C dan 90°C zona hambat yang kecil disebabkan kandungan antimikroba berupa senyawa flavonoid, saponin dan tanin tidak tahan terhadap suhu tinggi (Rahayu *et al.*, 2016).



Gambar 4. Hasil Diagram Alir *Escherichia coli*

Pada Gambar 4 menunjukkan bahwa zona hambat optimum dihasilkan pada konsentrasi 100% suhu 50°C dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Pada konsentrasi 50% juga menunjukkan hasil yang kuat pada penghambatan suhu dibandingkan suhu 40°C, yang mungkin dikarenakan senyawa yang terdapat pada buah belimbing wuluh dan daun sirih dapat ditarik dengan sempurna pada suhu optimumnya sebesar 50°C. Sedangkan pada suhu 60°C zona hambat yang kecil disebabkan kandungan antimikroba berupa senyawa flavonoid, saponin dan tanin tidak tahan terhadap suhu tinggi. Pada konsentrasi 10% di suhu 90°C zona hambat yang dihasilkan rendah dikarenakan pada suhu tersebut senyawa antimikroba aktivitasnya semakin menurun (Rahayu *et al.*, 2016).

Hasil konsentrasi optimum pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 yaitu pada konsentrasi 100% dimana pada konsentrasi tersebut zona hambat bakteri yang dihasilkan adalah yang paling besar. Hal tersebut dapat disebabkan karena konsentrasi ekstrak memenuhi kecepatan difusi zat berkhasiat. Apabila konsentrasi ekstrak semakin besar, maka proses difusi juga semakin cepat, sehingga semakin besar daya antibakteri dan semakin luas diameter zona hambat yang dihasilkan (Andries *et al.*, 2014).

Metode hidroekstraksi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih belum efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 jika dibandingkan dengan metode lain. Salah satu penyebabnya yaitu menggunakan pelarut aquadest dimana sifat dari aquadest yaitu mudah ditumbuhi jamur. Selain itu dapat dikarenakan pada metode maserasi masing-masing ekstrak tunggal buah belimbing wuluh dan daun sirih mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam kategori kuat dengan konsentrasi yang lebih rendah (Suyasa *et al.*, 2022). Namun uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih belum pernah dilakukan selain menggunakan metode hidroekstraksi, sehingga perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menggunakan metode maserasi ataupun metode yang lainnya.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan yaitu variasi suhu kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih menunjukkan bahwa pemanasan pada suhu 50°C memiliki daya hambat optimum.

Kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh dan daun sirih pada suhu 50° memiliki daya hambat optimum pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Staphylococcus aureus* sebesar 25,5 mm yang termasuk dalam kategori sangat kuat dan pada konsentrasi 100% dengan diameter hambat *Escherichia coli* sebesar 20,17 mm yang termasuk dalam kategori kuat.

REFERENSI

- Andries, J. R., Gunawan, P. N., Supit, A., Program, K. S., Dokter, S. P., Fakultas, G., Universitas, K., Manado, S. R., Studi, P., Dokter, P., & Universitas, G. (2014). Uji EFEK ANTI BAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans* SECARA IN VITRO. *E-GiGi*, 2(2). <https://doi.org/10.35790/EG.2.2.2014.5763>
- B, H. S., Rinawati, L. P., Laksmi, L. P., Gda, D., Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus*, D., Bagus Oka Suyasa, I., Setiyo Bekti, H., Putu Rinawati, L., Putu Laksmi, L., Diah Wahyuni, P., Gede Dwi Agustini, D., & Rakhmawati, A. (2022). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Surabaya: The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, 1(5), 29–41.
- Budyghifari, L., Laga, A., K. Sukendar, N., & Muhipdah. (2022). Efektivitas Lama dan Metode Blansir terhadap Kadar Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.). *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*, 8(2), 105–112. <https://doi.org/10.29244/jmpi.2021.8.2.105>
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86. <https://doi.org/10.17728/JATP.4201>
- Humaida, R. (2014). Strategy To Handle Resistance Of Antibiotics. *J Majority*, 3, 113.
- Kulla, K., & Herrani, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium sativum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOURNAL OF HEALTHCARE TECHNOLOGY AND MEDICINE*, 8(2), 1408–1420. <https://doi.org/10.33143/JHTM.V8I2.2479>
- Lisnawati, N., & Prayoga, T. (2020). *Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. Jakad Media Publishing.
- Magani, A. K., Tallei, T. E., & Kolondam, B. J. (2020). Uji Antibakteri Nanopartikel Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Bios Logos*, 10(1), 7. <https://doi.org/10.35799/jbl.10.1.2020.27978>
- Najib, A. (2018). *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam*. Deepublish.
- Rahayu, N. W. S., Prasetyo, E. N., & Isdiantoni. (2016). Hindroekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Pengendali Penyakit Ice-ice pada Budidaya *Kappaphycus alvarezii*. *Jurnal Sains Dan Seni Its*, 1–8.
- Sheira Rait, A., Nurhasanah, N., & Abadi Kiswandono, A. (2021). ANALISIS AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* Linn) PADA HANDSOAP MENGGUNAKAN METODE CAKRAM. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 6(02), 122–133. <https://doi.org/10.23960/aec.v6.i2.2021.p122-133>
- Suyasa, I. B. O., Bekti, H. S., Rinawati, L. P., Laksmi, L. P., Wahyuni, P. D., Agustini, D. G. D., & Rakhmawati, A. (2022). Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih dan Daun Legundi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Muhammadiyah Medical*

- Laboratory Technologist*, 5(1), 29. <https://doi.org/10.30651/jmlt.v5i1.11015>
- Tandi, J., Lalu, R., Magfirah, Kenta, Y. S., & Nobertson, R. (2020). Uji Potensi Nefropati Diabetes Daun Sirih Merah (*Piper croatum* Ruiz & Pav) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*): *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), 239–251. <https://doi.org/10.22487/KOVALEN.2020.V6.I3.15323>
- Tilarso, D.P, Muadifah, A., Handaru, W., Pratiwi, P. I., & Khusna, M. L. (2021). Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Dan Belimbing Wuluh Dengan Metode Hidroekstraksi. *Chempublish Journal*, 6(2), 63–74. <https://doi.org/10.22437/chp.v6i2.21736>
- Ulfah, M. U. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal FARMAKU (Farmasi Muhammadiyah Kuningan)*, 5(1), 25–31.
- Yorita Christensen, K. L., Holman, R. C., Steiner, C. A., Sejvar, J. J., Stoll, B. J., & Schonberger, L. B. (2009). Infectious disease hospitalizations in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 49(7), 1025–1035. <https://doi.org/10.1086/605562>