

# Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Dan Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Yuarinda Meily Anindya<sup>1</sup> · Desi Sri Rejeki<sup>1</sup> · Lailiana Garna Nurhidayati<sup>1</sup> · Farida Fakhrunnisa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Prodi S1 Farmasi Universitas Bhamada Slawi

\*Corresponding author: [faridafakhrunnisa@gmail.com](mailto:faridafakhrunnisa@gmail.com)

Diterima: 16-10-2024 | Disetujui: 28-10-2024 | Published online: 30-10-2024

©Authors 2024 · e-ISSN 3064-4461 · p-ISSN 3089-915X

<https://journal.pubsains.com/index.php/jcse/index>

**Abstract.** Wuluh starfruit (*Averrhoa bilimbi L.*) and green betel (*Piper betle L.*) leaves are medicinal plants that have antibacterial properties. Medicinal plants can be used as alternative medicine to obtain new compounds as antibacterial. The chemical compounds in wuluh starfruit leaves that have antibacterial properties are flavonoids, saponins and tannins, while green betel leaves have flavonoids, saponins, tannins and essential oils. The study aimed to determine the antibacterial activity of a combination of wuluh starfruit and green betel leaves extract against the growth of *Staphylococcus aureus*. The experimental research used a diffusion method by disc paper based on the diameter of the inhibition zone or the clear area formed around the paper disc. The extracts were obtained by maceration method using 96% ethanol solvent. The values of the inhibition zone in four concentrations; 5%, 10%, 15%, and 20% were respectively 13 mm, 13.5 mm, 15 mm, and 16 mm. On the other hand, the concentration of 20% had the most effective inhibition zone with a strong category against *Staphylococcus aureus*.

**Keywords:** Antibacterial, Extract Combination, Wuluh Starfruit Leaves, Green Betel Leaves, *Staphylococcus aureus*.

**Abstrak.** Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih hijau (*Piper betle L.*) merupakan tanaman obat yang berkhasiat sebagai antibakteri. Tanaman obat dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk mendapatkan senyawa baru yang terkandung dalam tanaman obat yang bersifat sebagai antibakteri. Kandungan senyawa kimia pada daun belimbing wuluh yang berkhasiat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, saponin dan tanin, sedangkan pada daun sirih hijau senyawa kimia yang berkhasiat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, saponin, tanin dan minyak atsiri. Tujuan penelitian dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih hijau (*Piper betle L.*) terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode difusi menggunakan kertas cakram berdasarkan diameter zona hambat atau daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram. Ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian dilakukan dengan empat konsentrasi yaitu 5% didapatkan zona hambat sebesar 13 mm, 10% didapatkan sebesar 13,5 mm, 15% didapatkan sebesar 15 mm, dan 20% didapatkan sebesar 16 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa besarnya diameter zona hambat kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau pada konsentrasi 20% memiliki zona hambat yang paling efektif dengan kategori kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Kata kunci:** Antibakteri, Kombinasi ekstrak, Daun belimbing wuluh, Daun sirih hijau, *Staphylococcus aureus*.



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License, which allows others to remix, tweak, and build upon the work non-commercially as long as the original work is properly cited. The new creations are not necessarily licensed under the identical terms

## PENDAHULUAN

Infeksi merupakan masuknya mikroorganisme ke dalam tubuh, berkembang biak dan menimbulkan penyakit. Keadaan ini dapat ditinjau sebagai salah satu tipe parasitisme yang terjadi bila satu organisme hidup dengan merugikan organisme lain yaitu inangnya. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit, yaitu bakteri, jamur, virus, dan parasit (Ningsih, Hair, & Kartika, 2016). Salah satu bakteri yang sering menginfeksi manusia yaitu *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang hanya memiliki satu dinding sel sehingga senyawa yang bersifat sebagai antibakteri akan lebih mudah untuk merusak dinding sel bakteri ini. Bakteri ini dapat menyebabkan adanya racun pada makanan, sindrom racun, infeksi kulit dan luka (Nurfadilah, 2013).

Sumber antibakteri yang paling mudah didapat yaitu pada tanaman karena memiliki aktivitas antibakteri terbesar karena adanya senyawa-senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa metabolit yang terkandung didalam tumbuhan mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Sartika, 2018). Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Belimbing wuluh dapat ditemui di tempat yang banyak terkena sinar matahari langsung tetapi cukup lembab (Parikesit, 2017). Bagian buah dari tanaman belimbing wuluh banyak dimanfaatkan untuk memasak. Salah satu fungsi flavonoid dan tanin dalam daun belimbing wuluh adalah sebagai antibakteri (Wijayakusuma, 2006). Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai kandungan metabolit seperti tanin, flavonoid, glukosida, asam sitrat, terpenoid, dan alkaloid serta beberapa mineral terutama kalsium dan kalium (Sukadana, 2007). Pada penelitian Pramiastuti, Rejeki, & Maghfiroh (2020) yaitu uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%.

Sirih hijau merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan untuk pengobatan. Bagian dari tanaman sirih hijau memiliki potensi untuk

pengobatan, tetapi yang paling sering dimanfaatkan adalah bagian daunnya. Sirih hijau mampu membunuh bakteri, karena dalam daun terkandung bahan kimia yang mempunyai aktivitas antibakteri yaitu minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin (Suliantari, Jenie, & Apriyantono, 2008). Menurut penelitian Suriawati, Patimah, & Rachmawati (2018) yaitu uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dapat menghambat bakteri pada konsentrasi 15%.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan untuk mengetahui konsentrasi paling efektif pada kombinasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

## METODE

### Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri (Normax), kertas cakram (Oxoid), inkubator (Mammert IN55), autoklaf (Alamerican), timbangan analitik (HWH-DJ203A), waterbath (DSS), blender (Airlux), moisture balance (MB60), oven (YNC-OV), batang pengaduk (Pyrex), cawan poselin (Pyrex), alat-alat gelas (Pyrex), pipet volume (Pyrex), kurs silikat, kawat ose, batang L, api bunsen, pinset, kain flanel, kertas saring, toples kaca, aluminium foil, kapas, penggaris, dan plastik wrap, penggaris (Butterfly), Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diperoleh dari Desa Procot Kecamatan Slawi, Kabupaten Tegal, bakteri *Staphylococcus aureus*, etanol 96%, media NA (Nutrient Agar), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, NaOH 1N, Iodium 0,1 N, serbuk Mg, HCl pekat, HCl 2N, akuades, FeCl<sub>3</sub> 1%, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, kertas saring, dan kertas cakram.

## Penyiapan Sampel

Daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau segar disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran atau benda asing. Kemudian daun dikeringkan menggunakan oven sekitar suhu 40-50°C. Daun yang telah kering diblender hingga berbentuk serbuk dengan derajat kehalusan tertentu (Sukandar, Fidrianny, & Triani, 2018).

## Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 500gram serbuk daun belimbing wuluh dan 500gram serbuk daun sirih hijau dimaserasi dengan masing-masing 2,5 L (1:5) etanol 96%. sampai simplisia terendam seluruhnya 2-3 cm diatas permukaan simplisia, kemudian dilakukan proses ekstraksi metode maserasi selama 3 hari dan setiap hari dilakukan pengadukan. Hasilnya disaring dengan kain flanel sehingga diperoleh filtrat. Filtrat kemudian diuapkan dengan *Rotary evaporator* dan dilanjutkan di *waterbath* pada suhu 50-60° C hingga pekat dan bebas dari pelarut sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya (Hamdanah & Anam, 2015).

## Parameter Ekstrak

Uji parameter ekstrak yang dilakukan pada penelitian ini meliputi parameter non spesifik yaitu kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan uji bebas etanol.

### 1. Kadar Air

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam alat Moisture Analyzer Balance yang telah diatur pada suhu 105°C. Pemanas halogen akan menyala dan memulai memanaskan ekstrak hingga bobot konstan, setelah lampu mati, berat ekstrak sudah konstan pada layar akan ditampilkan kadar air dari ekstrak (Saifudin et al., 2011). Kadar air dalam ekstrak tidak boleh lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak (Jahidin, Maronto, & Galib, 2014).

### 2. Susut Pengeringan

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam botol timbang yang sebelumnya telah

dioven pada suhu 105°C selama 30 menit dan sudah dilakukan penimbangan pada botol tersebut. Keringkan ekstrak pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot konstan, penimbangan dilakukan setelah botol timbang dan ekstrak dimasukkan ke dalam desikator hingga suhu kamar (Saifudin et al., 2011). Tujuan parameter ini ialah memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Nilai standar dari uji susut pengeringan adalah  $\leq 10\%$  (Hana, 2010).

### 3. Kadar Abu Total

Sebanyak 1 gram ekstrak yang telah digerus dan ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan dan ditara, diratakan. Pijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan, dan ditimbang. Jika cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, saring melalui kertas saring bebas abu. Pijarkan sisa kertas dan kertas saring dalam krus yang sama. Masukkan filtrat ke dalam krus, uapkan, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu terhadap bahan yang telah dikeringkan (Kemenkes RI, 2015). Parameter kadar abu ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak. Nilai standar dari uji kadar abu total adalah  $< 10\%$  dan kadar abu tidak larut asam  $< 1\%$  (Lela & Vina, 2019).

### 4. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut asam. Kemudian disaring dengan kertas saring bebas abu dan residunya dibilas dengan air panas. Abu yang tersaring dan kertas saringnya dimasukkan kembali dalam krus silikat yang sama. Setelah itu ekstrak dipijar dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan dengan suhu 33°C dinaikkan secara bertahap hingga 600  $\pm$  25°C hingga arang habis. Kemudian ditimbang hingga bobot tetap (W3) (Kemenkes RI, 2015). Nilai standar dari uji kadar abu tidak larut asam  $< 1\%$  (Lela & Vina, 2019).

### 5. Uji Bebas Etanol

Sebanyak 5 mL ekstrak sampel ditambah 1 mL NaOH 1 N dan perlahan-lahan (setelah 3

menit) ditambahkan 2 mL Iodium 0,1 N. Jika timbul bau Iodoform dan terbentuk endapan kuning dalam 30 menit maka bahan mengandung etanol (Oktaviani, Sabikis & Hartanti, 2011).

### Skrining Fitokimia

#### 1. Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan air dan dipanaskan selama 2 menit yang telah dilarutkan dengan air. Selanjutnya 0,2 gram serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat dicampurkan. Terbentuknya warna kuning, jingga atau merah menunjukkan hasil positif senyawa yang mengandung flavonoid (Marwoko, 2013).

#### 2. Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air, panaskan selama 2 menit. Kemudian, dinginkan dan disaring, filtrat dibagi menjadi 3 tabung untuk uji alkaloid. Pada tabung 1 ditambah 2 tetes pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih/kuning menandakan adanya alkaloid. Pada tabung 2 ditambah 2 tetes larutan pereaksi Dragendroff, hasil positif jika terbentuk endapan berwarna merah atau jingga (Marwoko, 2013).

#### 3. Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dipanaskan dengan 10 mL akuades, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif jika terbentuk warna biru dan hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Setyowati et al, 2014).

#### 4. Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL akuades panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, jika terbentuk buih setinggi 1 sampai 10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit menunjukkan adanya saponin (Marwoko, 2013).

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% dilakukan pada ekstrak tunggal dan kombinasi dengan perbandingan 1:1. Kontrol negatif yang

digunakan etanol 96%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Kertas cakram dicelupkan dalam larutan uji sesuai konsentrasi selama 5 menit kemudian diletakkan diatas permukaan media Nutrient Agar yang berisi bakteri. Masing-masing cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri diamati berdasarkan pengukuran diameter daerah hambat atau daerah bening yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan mistar. Pengujian dilakukan 3 kali pengulangan (Mulyadi, Wuryanti, & Sarjono, 2017).

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dengan SPSS 20 menggunakan uji Normalitas tetapi dilanjutkan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis dilakukan untuk menentukan adakah perbedaan signifikan secara statistik antara dua atau lebih kelompok variabel. Setelah diperoleh data maka dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau diekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian simplisia dengan metode perendaman menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Sitepu, 2010). Sebanyak 500 gram serbuk daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau dimasukkan dalam wadah kaca dengan menambahkan etanol 96% sampai sampel terendam. Perbandingan sampel dan pelarut yaitu (1:5). Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena etanol mempunyai kemampuan penyari yang mampu menyari dari senyawa non-polar sampai dengan polar (Saifudin et al., 2011). Perendaman serbuk dilakukan selama 3 hari dalam wadah dan terlindungi dari cahaya, sesekali dilakukan pengadukan dengan *homogenizer* agar pelarut masuk ke seluruh permukaan serbuk simplisia dan mempercepat proses pelarutan senyawa kimia yang terdapat dalam sampel. Filtrat

yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 50-60°C sampai didapatkan ekstrak kental. Kemudian dihitung rendemen yang dihasilkan (Ningsih *et al.*, 2020).

Karakterisasi ekstrak terdiri dari dua proses yaitu parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter spesifik merupakan aspek analisis kimia secara kualitatif maupun kuantitatif terhadap kadar senyawa aktif yang berkaitan dengan aktivitas farmakologis dari suatu ekstrak. Sedangkan parameter nonspesifik adalah analisis secara fisik, kimia, dan mikrobiologi yang berkaitan dengan keamanan dan stabilitas suatu ekstrak (Marpaung & Septiyani, 2020). Penentuan parameter ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui mutu/kualitas ekstrak yang akan digunakan.

**Tabel 1. Hasil Uji Parameter Non Spesifik Ekstrak**

Parameter	Daun	Daun Sirih
	Belimbing Wuluh (%)	Hijau (%)
Kadar Air	3,18	4,73
Susut	0,63	0,30
Pengeringan		
Kadar Abu Total	8	5
Kadar Abu Tidak Larut Asam	-38	-42

Parameter kadar air adalah pengukuran kandungan air yang berada didalam bahan, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan. Parameter ini bertujuan untuk menetapkan residu air setelah proses pengentalan atau pengeringan. Kadar air dalam ekstrak tidak boleh lebih dari 10%. Hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak (Jahidin, Maronto & Galib, 2014). Parameter susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya yang hilang pada proses pengeringan. Persyaratan kadar susut pengeringan yaitu <10% (Hana, 2010). Hasil yang diperoleh yaitu

ekstrak daun belimbing wuluh 0,63% dan ekstrak daun sirih hijau 0,30%.

Parameter kadar abu ini terkait dengan kemurnian dan kontaminasi suatu ekstrak. Nilai kadar abu total yaitu <10% (Lela & Vina, 2019). Berdasarkan hasil penelitian kadar abu total ekstrak daun belimbing wuluh sebesar 8% dan ekstrak daun sirih hijau 5%. Jika kadar abu yang dihasilkan lebih tinggi dari batas yang ditentukan, maka ekstrak dapat dinyatakan mengandung cemaran mineral yang dapat menurunkan kualitas ekstrak. Parameter kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengevaluasi ekstrak terhadap bahan-bahan yang mengandung silika seperti tanah dan pasir yang biasanya menjadi pengotor pada sampel (Saifudin *et al.*, 2011). Persyaratan kadar abu tidak larut asam yaitu <1% (Lela & Vina, 2019). Tinggi rendahnya kadar abu suatu bahan antara lain disebabkan oleh kandungan mineral yang berbeda pada sumber bahan baku dan juga dapat dipengaruhi oleh proses demineralisasi pada saat pembuatan (Siswati, 2020).

Uji bebas etanol dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan etanol yang terdapat dalam ekstrak daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau. Hasil positif ditandai dengan tidak terbentuk endapan kuning dan tidak timbul bau iodoform (Oktaviani, Sabikis, & Hartati, 2011). Uji bebas etanol dilakukan supaya ketika diujikan pada uji aktivitas antibakteri hanya terkandung ekstrak. Skrining fitokimia dilakukan sebagai uji pendahuluan secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada di dalam tumbuhan (Andriyanto *et al.*, 2016). Metode skrining fitokimia dilakukan dengan pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Widayanti, Permana, & Kusumaningrum, 2009).

**Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia**

Golongan Senyawa	Daun Belimbing Wuluh	Daun Sirih Hijau
Flavonoid	+	+
Alkaloid	-	-
Tanin	+	+
Saponin	+	+

Hasil uji skrining fitokimia sesuai dengan penelitian Pramiastuti *et al* (2020) dan Sirait *et al* (2020) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Sedangkan hasil uji skrining ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil ini sesuai dengan penelitian Rasydy, Supriyanta, & Novita (2019) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram dengan cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai penampung zat mikroba (Bonang, 1992). Kertas cakram yang digunakan berukuran 6 mm dan direndam dalam konsentrasi supaya ekstrak dapat terserap oleh kertas cakram. Kemudian diletakan diatas media yang berisi bakteri. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, karena pada selang waktu tersebut diasumsikan bakteri telah mengalami fase logaritmik atau eksponensial yang ditandai dengan meningkatnya jumlah sel (Saropah *et al.*, 2012).

**Tabel 3. Hasil Zona Hambat**

Sampel Ekstrak	Zona Hambat			
	Konsetrasi (mm)			
	5%	10%	15%	20%
Daun Belimbing wuluh	9	10,3	11,5	13,3
Daun Sirih Hijau	13	14,1	14,5	15,8
Kombinasi	13	13,5	15	16
Kontrol Negatif	0	0	0	0

Berdasarkan hasil menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi semakin besar pula zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan kategori zona hambat menurut Susanto & Sudrajat (2012), pada ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 5% (9 mm) memiliki zona hambat dengan kategori sedang. Sedangkan pada ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 10% (10,3 mm), 15% (11,5 mm), dan 20% (13,3 mm) memiliki zona

hambat dengan kategori kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 5% (13 mm), 10% (14,1 mm), 15% (14,5 mm), dan 20% (15,8 mm) memiliki zona hambat dengan kategori kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada ekstrak kombinasi antara daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau pada konsentrasi 5% (13 mm), 10% (13,5 mm), 15% (15 mm), dan 20% (16 mm) memiliki zona hambat dengan kategori kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan kontrol negatif (etanol 96%) tidak memberikan pengaruh terhadap zona hambat yang terbentuk ditunjukkan dengan nilai zona hambat kontrol negatif seluruhnya nol sehingga dapat dikatakan zona hambat yang dihasilkan berasal dari kemampuan ekstrak tersebut.

Pada penelitian sebelumnya daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan metode difusi cakram dan pembuatan ekstraknya dengan cara maserasi, menunjukkan bahwa rata-rata daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* tertinggi pada konsentrasi 10% sebesar 14,67 mm (Wijayanti & Safitri, 2018). Sedangkan pada daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan metode difusi cakram, menghasilkan rata-rata diameter tertinggi pada konsentrasi 75% sebesar 24 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus* (Suriawati, Patimah, & Rachmawati, 2018).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam menghambat sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavonoid berperan penting dalam proses interkelasi atau ikatan hidrogen yakni menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Hasil interaksi flavonoid juga akan menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel. Dalam menghambat fungsi membran sel flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran sel akan rusak dan senyawa intraseluler akan keluar. Sedangkan dalam menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri, yaitu dengan mencegah pembentukan energi pada

membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri yang berperan dalam aktivitas antimikroba dan protein ekstraseluler (Nomer, Duniaji, & Nociantiri, 2019). Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim yang berperan dalam proses replikasi DNA. Inhibisi replikasi DNA akan menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Sementara itu, alkaloid yang terdapat dalam ekstrak dapat mengganggu terbentuknya jembatan silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tertentu (Ernawati & Sari, 2015).

Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel bakteri menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau mati (Maliana *et al*, 2013). Mekanisme kerja senyawa saponin sebagai antibakteri karena senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel bakteri dan menimbulkan kematian sel bakteri. Saponin memberikan efek antibakteri dengan membentuk kompleks polisakarida pada dinding sel. Interaksi saponin dengan dinding sel akan menyebabkan rusaknya dinding dan membran sel hingga akhirnya bakteriolisis (Ernawati & Sari, 2015).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri, yaitu kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar, dan sebaliknya jika suspensi lebih keruh diameter zona hambat akan semakin kecil. Temperatur inkubasi dapat mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Suhu optimal pertumbuhan bakteri yaitu  $<35^{\circ}\text{C}$  dapat menyebabkan diameter zona hambat lebih besar. Hal ini bisa terjadi pada plate yang ditumpuk-tumpuk lebih dari 2 plate pada saat inkubasinya. Plate yang ditengah suhunya  $<35^{\circ}\text{C}$ . Inkubasi pada suhu  $>35^{\circ}\text{C}$ , dapat menyebabkan

difusi sampel yang kurang baik. Selain itu, tebalnya media agar juga dapat mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Ketebalan media yang efektif yaitu sekitar 4 mm. Jika  $<4$  mm difusi sampel akan menjadi lebih cepat, sedangkan jika  $>4$  mm difusi sampel akan menjadi lambat (Zeinusa *et al.*, 2019).

Analisis data dari hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan uji normalitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-smirnov* didapatkan nilai  $0,884 > 0,05$  yang menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas didapatkan nilai  $0,001$  yang menunjukkan data tersebut tidak homogen karena nilai  $< 0,05$ . Hasil uji *Kruskal Wallis* dengan nilai *Asymp. Sig* yaitu  $0,020 < 0,05$  yang menunjukkan paling tidak terdapat perbedaan bermakna dari zona hambat yang terbentuk.

Selanjutnya uji *Mann Whitney* dilakukan untuk mengetahui paling tidak terdapat antara 2 kelompok atau lebih perbedaan bermakna dengan kelompok yang dibandingkan. Pada hasil dapat disimpulkan bahwa hanya pada konsentrasi 20% DBW dengan 5% sirih, 10% sirih, dan 15% sirih memiliki nilai  $p > 0,05$ . Kemudian pada konsentrasi 20% DBW dengan konsentrasi 5% kombinasi, 10% kombinasi, dan 15% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Kemudian pada konsentrasi 5% sirih dengan 10% sirih juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Kemudian pada konsentrasi 10% sirih dengan 15% sirih, 5% kombinasi, 10% kombinasi, dan 15% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Kemudian pada konsentrasi 15% sirih dengan konsentrasi 15% kombinasi, 20% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Kemudian pada konsentrasi 20% sirih dengan konsentrasi 15% kombinasi dan 20% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Pada konsentrasi 5% kombinasi dengan 10% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Pada konsentrasi 10% kombinasi dengan 15% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Pada konsentrasi 15% kombinasi dengan 20% kombinasi juga memiliki nilai  $p > 0,05$ . Sedangkan nilai yang lain uji *Mann*

Whitney menunjukkan perbedaan bermakna antara 2 kelompok atau lebih.

## SIMPULAN DAN SARAN

Kombinasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi paling efektifnya pada 20% dengan zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 16 mm dengan kategori kuat. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut hingga diperoleh senyawa murni dari ekstrak daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau yang paling efektif sebagai antibakteri. Selain itu perlu dilakukan pengembangan formulasi sediaan antibakteri daun belimbing wuluh dan daun sirih hijau agar pemanfaatannya dapat dioptimalkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andriyanto, B. A., Ardiningsih, P., Idiawati, N. (2016). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5 (4).
- Bonang, G. (1992). *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* Edisi 16, Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Ernawati, & Sari, K. (2015). Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* P. Mill) terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kajian Veteriner*. 3(2), 203-211.
- Hamdanah, S., Anam, S., J. (2015). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Pharmacy*, 1, 22-34.
- Hana, N. (2010). Formulasi Tablet Hisap Ekstrak Etanol Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb) Dengan Variasi Konsentrasi Polyvinyl Pyrrolidone (Pvp) Sebagai Pengikat Dan Pengaruhnya Terhadap Kadar Cd4 Dalam Darah. *Uin*, 63.
- Jahidin., La, Maronto. Galib., & D. (2014). Ethnic Study of Tradisional Medicinal Plants Of Buton Sulawesi Tenggara. *Jurnal Sainsmat*, 3(1), 90-108.
- Kemenkes RI. (2015). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Jakarta: Kemenkes RI.
- Lela Lailatul Khumaisah, Vina Juliana Anggraeni, M. S. F. (2019). Skrining Fitokimia dan Uji Antibakteri Ekstrak Daun Canar Susu (*Smilax macrocarpa* Blume) Terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus epidermidis*. *Acta Pharm Indo*, 7(1), 28-35.
- Marpaung, M. P., et al (2020). Penentuan Parameter Spesifik dan Nonspesifik Ekstrak Kental Etanol Batang Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers). *Journal of Pharmacopolium*. Vol 3. No2. 58-67.
- Maliana, Y., Khotimah, S., & Diba, F. (2013). Aktifitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn. Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Captotermes Curvignathus Holmgren*. *Jurnal Protobiont*, 2(1), 7-11.
- Marwoko, M. T. B. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chem Info Journal*, 1(1), 196-201.
- Mulyadi, M., Wuryanti, W., & Sarjono, P. R. (2017). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang-Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 130-135.
- Ningsih, D.R., Hair, Z., & Kartika D. (2016). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *New England Journal of Medicine*, 11: 101-102.
- Ningsih, A. W., Nurrosyidah, I. H., & Hisbiyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(2), 49-57.
- Nomer, N. M. G. R., Duniaji, A. S., & Nocianitri, K. A. (2019). Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan* 8(2).
- Oktaviani Shella Diana., Sabikis, dan D. H. (2011). Identifikasi Etanol Hasil Fermentasi Sente (*Alocasia Macrorrhiza* (L.) G. Don), Sente Wulung (*Alocasia Indica* (Lour.) Koch) dan Kimpul

- (*Xhantosoma Nigrum* (Vell.) Mansf). *Pharmacy Journal*, 8(1), 25-44.
- Parikesit, (2017). Manfaat dan Khasiat Belimbing Wuluh. *Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Andalas*.
- Pramiastuti, O., Rejeki, D., & Maghfiroh, I. (2020). Uji Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dan Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 9(2), 33-41.
- Rasydy, L. O. A., Supriyanta, J., & Novita, D. (2019). Formulasi Ekstrak Etanol 96% Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dalam Bedak Tabur Anti Jerawat Dan Uji Aktivitas Antiacne Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmagazine*. 6(2), 18-26.
- Saifudin A, Rahayu V, Teruna HY. (2011). Standarisasi Bahan Obat Alam. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Saropah, Dyah Ayu., Akyunul Jannah., & Anik Maunatin. (2012). Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi Dari Bekatul. *ALCHEMY*, 2(1).
- Sartika, Ika. (2018). Karakterisasi Senyawa Antibakteri Dari Beberapa Tanaman Obat Empiris Yang Berasal Dari Desa Pattiro Kabupaten Bone. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Setyowati, W, Agustina Eko., Ariani, Sri Retno Dwi., Ashadi., Mulyani, Bakti, dan Rahmawati, C. P. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI*, 4(1), 271-280.
- Sirait, D. H. F., Yenita, Roslina, A., & Hariaji, I. (2020). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Klebsiellaa pneumoniae* secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Maksitek*. 5(4), 131-137.
- Sitepu, J. S. G. (2010). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Secara Maserasi dan dengan Alat Soxhlet Terhadap Kandungan Kurkuminoid dan Minyak Atsiri dalam Ekstrak Etanolik Kunyit (*Curcuma domestica* Val.).
- Siswati. (2020). Analisa Kadar Air Dan Kadar Abu Pada Simplisia Temu Giring (*Curcuma heyneana*) dan Simplisia Kunyit (*Curcuma domestica*) di Balai Riset Dan Standarisasi Industri Medan. Tugas Akhir. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- Sukadana, I.M., Rahayu Santi, S., Juliarti, N. K. (2007). Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Kimia*, 2(1). 15-18.
- Sukandar, E.Y., Fidrianny, I., Triani, R. (2018). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, MRSA dan MRCNS. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 39(3 & 4), 51-56.
- Suliantari, Jenie, B. S. L., & Apriyantono, M. T. S. A. (2008). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sirih Hijau terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Tekno. Dan Industri Pangan*, 19(1), 1-7.
- Suriawati, J., Patimah, P., & Rachmawati, S. R. (2018). Antibacterial Activities Test of Combination of Ethanolic Extract of Betel Leaves (*Piper betle* L.) and Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L.). Against *Staphylococcus aureus*. *Sanitas: Jurnal Teknolog Dan Seni Kesehatan*, 9(2), 118- 126.
- Susanto, D. Sudrajat., & Ruga R. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarman Scientifie*, 11(2), 181-190.
- Widayanti, S. M., A. W. Permana, H. D. Kusumaningrum. (2009). Kapasitas Kadar Antosianin Ekstrak Tepung Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Pada Berbagai Pelarut Dengan Metode Maserasi. *Jurnal Pascapanen*, 6(2), 61-68.
- Wijayanti, T. R. A., & Safitri, R. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Infeksi Nifas. *Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 6(3), 277.
- Wijayakusuma, H., (2006). Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Darah Tinggi, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Zeinusa, P. et al. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol The Hijau Terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro Majority. Volume 8 No 2.