

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

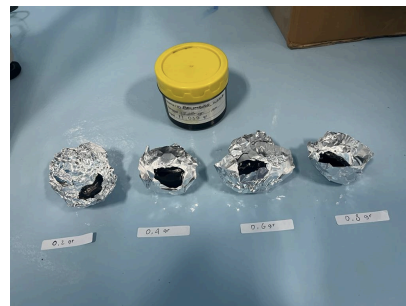
A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik objek penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa Belimbi L.*). Sampel daun belimbing wuluh diperoleh dari daerah Panjer, Denpasar Selatan. Daun yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari adalah daun belimbing wuluh segar berwarna hijau, berumur muda sampai sedang yang tumbuh dari tangkai ketiga sampai keenam dan tidak berlubang. Dalam proses pembuatan zat uji diperkukan sebanyak 2 kg daun belimbing wuluh segar. Setelah dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam dan penghaluskan didapatkan 315,05 gram serbuk daun belimbing wuluh. Dari jumlah serbuk tersebut digunakan 300 gram serbuk daun belimbing wuluh yang dilarutkan dengan 3000 ml etanol 96% dengan cara maserasi sebanyak 2 kali. Setelah proses maserasi dilakukan evaporasi diperoleh ekstrak etanol belimbing wuluh sebanyak 17,039 gram ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 100%.



(a)



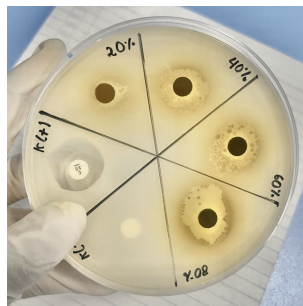
(b)

Gambar 7. (a) Serbuk daun belimbing wuluh, (b) Ekstrak etanol daun belimbing wuluh

Ekstrak daun belimbing wuluh merupakan sampel yang akan diujikan pada bakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak daun belimbing wuluh diujikan dalam enam perlakuan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 20, 40, 60 dan 80% yang diencerkan menggunakan pelarut etanol 96% dan dilakukan dengan 6 kali pengulangan dengan metode difusi cakram yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol belimbing wuluh dilakukan dengan empat perlakuan yaitu konsentrasi 20, 40, 60 dan 80% dan enam kali pengulangan dengan menggunakan difusi cakram. Kemampuan ekstrak etanol daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang ditunjukkan adanya zona bening disekeliling cakram zona hambat yang terbentuk pada media dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Zona hambat ekstrak etanol belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

3. Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

a. Diameter zona hambat kontrol kerja

Kontrol kerja yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik kloramfenikol 30 µg. Hasil pengukuran diameter zona hambat pada kontrol positif terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3
Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Pada Kontrol Kerja

Kontrol	Diameter Zona Hambat (mm)						Rerata (mm) ±SD
	I	II	III	IV	V	VI	
Kontrol Kerja (Kloramfenikol 30µg)	12,25	13,75	12,5	12,75	13,25	13,25	12,9±0,55

Data pada Tabel 3, diameter zona hambat yang dihasilkan oleh kloramfenikol 30 µg terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* memiliki rerata 12,9 mm±0,55.

b. Kontrol negatif

Berdasarkan hasil pengukuran dapat diketahui bahwa kontrol negatif tidak dapat menghasilkan zona bening disekeliling cakram. Dari hasil penelitian, diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh etanol 96% pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah 0 mm pada semua pengulangan.

c. Diameter zona hambat kelompok perlakuan

Hasil pengukuran diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4
Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh Terhadap *Streptococcus mutans*

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)						Rerata (mm) ±SD
	I	II	III	IV	V	VI	
20	3,00	2,75	3,00	3,75	3,50	3,25	3,20±0,36
40	4,25	4,75	4,00	4,25	3,75	4,25	4,20±0,33
60	5,75	6,00	5,25	6,00	5,50	5,00	5,58±0,40
80	6,50	7,25	7,25	7,00	6,75	5,75	6,75±0,57

Berdasarkan data pada Tabel 4, diketahui bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada berbagai variasi konsentrasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80%.

4. Kategori zona hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

Kategori hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak daun belimbing wuluh berdasarkan kategori daya hambat zat antibakteri disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5
Kategori Zona Ekstrak Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh Terhadap *Streptococcus mutans*

Konsentrasi (%)	Rerata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Zona Hambat
20	3,20	Lemah
40	4,20	Lemah
60	5,58	Sedang
80	6,75	Sedang

Berdasarkan data pada Tabel 5, diketahui bahwa daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* memiliki rentang zona hambat lemah sampai zona hambat sedang.

5. Hasil analisis data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh pada penelitian dianalisis menggunakan uji statistik dengan bantuan perangkat lunak komputer. Hasil uji statistik *Kolmogorov Smirnov* yang didapatkan pada diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yaitu dengan nilai probabilitas (p) = 0,200. Bila dibandingkan dengan nilai α (0,05) maka nilai $p > \alpha$ (0,200 > 0,05). Hasil data diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan data berdistribusi normal. Karena data berdistribusi normal, untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

Hasil uji statistik *One Way Anova* didapatkan hasil rerata $p = 0,000$ dan jika dibandingkan dengan nilai α (0,05) maka nilai $p < \alpha$ (0,000 < 0,05). Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan nilai diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Untuk mengetahui konsentrasi yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)*.

Konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* memiliki perbedaan zona hambat yang ditunjukkan dengan hasil uji LSD dengan nilai p (0,000) < α (0,05). Nilai p (0,000) < α (0,05) diperoleh pada konsentrasi 20% terhadap kontrol, konsentrasi 40, 60 dan 80% ; konsentrasi 40% terhadap kontrol, konsentrasi 20, 60 dan 80% ; konsentrasi 60%

terhadap kontrol, konsentrasi 10, 20 dan 80 ; konsentrasi 80% terhadap kontrol, konsentrasi 20, 40 dan 60%. Nilai tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai zona hambat yang bermakna pada masing-masing variasi konsentrasi.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Uji aktivitas antibakteri dimulai dari pemilihan bahan uji yaitu daun belimbing wuluh dengan karakteristik tertentu kemudian diekstraksi dan dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol daun belimbing wuluh. Ekstrak pekat ini pada konsentrasi tertentu, diujikan pada dua buah isolat bakteri *Streptococcus mutans*. Karakteristik objek penelitian, pengukuran diameter zona hambat serta analisis data.

1. Objek penelitian dan ekstraksi zat uji

Daun belimbing wuluh yang digunakan untuk penelitian ini adalah daun belimbing wuluh dengan kriteria inklusi daun belimbing wuluh segar berwarna hijau, berumur muda sampai sedang yang tumbuh dari tangkai ketiga sampai keenam dan tidak berlubang. Menurut Achakzai *et al.*, 2019 dalam Felicia, Widarta dan Yusasrini, 2015 penelitian yang dilakukan terdahulu mendapatkan hasil daun muda memiliki kandungan saponin dan alkaloid yang lebih tinggi, sehingga penelitian ini diharapkan memperoleh kandungan saponin dan alkaloid tinggi. Daun belimbing wuluh kemudian dikeringkan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam daun dan untuk mencegah mikroba dan aktivitas enzim (Winarno, 2004 dalam Sari, Affandi, Prabawa, 2020).

Daun belimbing wuluh di oven menggunakan oven dengan suhu 50⁰C. Menurut Chan, 1997 dalam Ningsih dan Asngad, 2016 metode pengovenan dilakukan karena pengovenan memiliki kelebihan yaitu suhu lebih stabil dibanding dengan pengeringan di bawah sinar matahari dan mudah dilakukan. Pengeringan menggunakan oven didapatkan hasil yang lebih merata dan sirkulasi udara lebih sempurna, sehingga mampu mengoptimalkan proses pengeringan (Warnis, Aprilina dan Maryanti, 2020).

Penggunaan suhu diatas 50⁰C untuk pengeringan dapat mempengaruhi air di dalam daun dan mengakibatkan menurunnya kandungan flavonoid dalam sampel. Perubahan dalam dekomposisi senyawa flavonoid dapat disebabkan oleh suhu pengeringan yang tinggi. Penurunan senyawa flavonoid dapat disebabkan oleh perubahan komposisi kimia senyawa fenolik. Suhu pengeringan juga dapat menyebabkan penurunan senyawa flavonoid (Syafrida, Darmanti dan Izzati, 2018).

Daun belimbing wuluh yang sudah dikeringkan menggunakan oven kemudian dihaluskan menjadi serbuk simplisia menggunakan blender yang bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel daun, sehingga didapatkan serbuk simplisia yang halus. Semakin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi akan lebih efisien dan efektif apabila menggunakan serbuk simplisia yang halus (Suryaningsih *et al.*, 2017). Serbuk simplisia daun belimbing wuluh diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan merendam 300 gram serbuk ekstrak etanol daun belimbing wuluh kedalam 3000 ml etanol 96%. Maserasi merupakan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Selama proses perendaman, tekanan di dalam dan di luar sel memicu

pemecahan dinding dan membran sel sehingga, metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma terlarut dalam pelarut organik. (Handayani dan Nurcahyanti, 2015). Maserasi memiliki banyak keuntungan karena prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana. Metode ekstraksi tidak memerlukan pemanasan, sehingga bahan alam tidak terurai dan zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak (Nurhasnawati, Sukarmi dan Handayani, 2017) .

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96%. Penggunaan etanol 96% untuk maserasi dilakukan karena etanol bersifat universal yang mampu menarik semua zat aktif, kadar toksisitasnya rendah, semipolar, baik bersifat polar dan non polar (Putri, Yuniarni dan Hazar, 2015). Ekstraksi etanol daun belimbing wuluh didapatkan ekstraksi dengan konsentrasi 100%. Untuk mengetahui zat aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh dibuat dalam konsentrasi 20, 40, 60 dan 80% dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Streptococcus mutans merupakan bakteri yang digunakan sebagai pengujian ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram.

Metode ini dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang telah direndam dengan larutan uji di atas media yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pengamatan dilakukan setelah bakteri diinokulasi, adanya zona bening disekitar cakram yang berarti adanya pertumbuhan bakteri. Pemilihan metode difusi cakram ini karena sederhana dan mudah untuk dapat mengetahui aktivitas antibakteri pada sampel yang di uji (Mulyadi, Wuryanti dan Sarjono, 2017).

2. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh di uji dengan menggunakan metode difusi cakram. Ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang ditunjukkan adanya zona bening pada daerah sekitar cakram yang telah dijenuhkan oleh masing-masing variasi konsentrasi ekstrak.

Nilai zona hambat dapat ditentukan menggunakan jangka sorong dengan mengukur zona bening yang terbentuk. Semakin besar diameter zona hambatnya, maka aktivitas antibakterinya semakin kuat (Asmardi, Roza dan Fitmawat, 2020 dalam Bakhriansyah, Amalia dan Biworo, 2021).

a. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada kontrol kerja

Kontrol kerja yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloramfenikol 30 µg, yang berfungsi sebagai kontrol kerja. Antibiotik kloramfenikol memiliki khasiat bakteristatik yang dapat digunakan untuk melawan infeksi yang disebabkan oleh beberapa jenis bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Sumardjo, 2009 dalam Wardaniati dan Gusmawarni, 2021). Antibiotik kloramfenikol menghentikan pembentukan protein bakteri pada ribosom subunit 50S dan enzim peptidil transferase. Akibatnya, tidak ada pembentukan ikatan peptida selama proses pembentukan protein bakteri (Samputri, Toemon dan Widayati, 2020). Kloramfenikol memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri yang dapat menghambat sintesis protein dengan cara mengikat ribosom dalam pembentukan ikatan peptida karena menghambat translokasi peptidil-tRNA (Dian

dan Budiarmo, 2015 dalam Bayi, Shobah dan Insani, 2022).

Kategori yang ditetapkan *Clinical and Laboratory Standards Institute*, kekuatan menghambat antibiotik yaitu sensitif, intermediet dan resisten. Hasil kontrol kerja didapatkan rerata diameter zona hambat kloramfenikol yaitu 12,9 mm. Antibiotik kloramfenikol memiliki kemampuan menghambat dengan kategori sensitif apabila menimbulkan zona hambat ≥ 18 mm, intermediet apabila memiliki nilai diameter zona hambat 13-17 mm, dan tergolong resisten apabila memiliki nilai zona hambat ≤ 12 mm. Uji nilai diameter zona hambat pada bakteri *Streptococcus mutans* apabila dibandingkan dengan kategori zona hambat yang telah ditetapkan oleh CLSI, termasuk kedalam kategori intermediet karena membentuk zona hambat 12,9 mm terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

b. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena ekstrak memiliki kelarutan yang tinggi pada etanol 96% dan etanol 96% tidak memiliki zona hambat pada kedua bakteri sehingga, dapat digunakan sebagai kontrol negatif. Penggunaan etanol 96% sebagai kontrol negatif dalam pengujian bertujuan untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap pembentukan diameter zona hambat ekstrak uji. Hasil uji kontrol negatif pada bakteri *Streptococcus mutans* yaitu 0 mm. Hal ini membuktikan bahwa pelarut etanol 96% yang digunakan dalam konsentrasi tidak mempengaruhi zona hambat yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi karena etanol 96% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Hasil

0 yang diperoleh disebabkan karena etanol memiliki konsentrasi tinggi yaitu 96% sehingga mudah menguap, hanya bersifat *short acting* dan tidak bersifat persisten.

Hasil penelitian yang diperoleh sejalan dengan penelitian terdahulu tentang uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae l.*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang menghasilkan diameter zona hambat 0 mm pada kontrol negatif (Bontjura, Waworuntu dan Siagian, 2015). Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80%

c. Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 20, 40, 60 dan 80%

Hasil penelitian pada Tabel 5, menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka ukuran diameter zona hambat yang terbentuk akan semakin besar. Terjadinya perbedaan diameter zona hambat yang disebabkan konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh dikarekan adanya perbedaan konsentrasi pada masing-masing ekstrak daun belimbing wuluh dimana semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar diameter zona hambat yang timbul. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan yang menyebabkan semakin banyak senyawa aktif yang terkandung di dalamnya sehingga terjadinya peningkatan efektifitas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan (Christoper, Natalia dan Rahmayanti, 2018).

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh ini disebabkan karena adanya senyawa aktif didalamnya. Senyawa yang terkandung dalam daun belimbing wuluh seperti alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid (Yanti dan Vera, 2019). Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan merusak komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh dan pembentukan sel tidak sempurna karena dinding selnya hanya terdapat membran sel yang disebabkan oleh terganggunya sintesis peptidoglikan (Retnowati *et al.*, 2011 dalam Dwicahyani, Sumardianto dan Rianingsih, 2018).

Mekanisme senyawa saponin sebagai antibakteri adalah bahwa saponin akan berikatan dengan lipopolisakarida yang terdapat pada dinding sel bakteri menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel dan menurunkan tegangan permukaan dinding sel yang menyebabkan jika interaksi dinding sel akan pecah yang menyebabkan zat pada antibakteri masuk kedalam sel dan dapat mengganggu metabolisme sehingga bakteri mati (Sari *et al.*, 2015)

Mekanisme senyawa tanin sebagai antibakteri adalah lisisnya sel *Porphyromonas gingivalis*. Hal ini disebabkan tanin mempunyai target pada dinding polipeptida dan dinding sel bakteri sehingga kurang sempurnanya pembentukan dinding sel, kemudian sel bakteri akan mati. Selain itu, tanin juga memiliki kemampuan untuk mengaktifkan enzim bakteri serta mengganggu laju protein pada lapisan dalam sel (Ngajow *et al.*, 2013 dalam Sapara, Waworuntu dan Juliatri, 2016).

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan cara penghambatan fungsi membran sitoplasma, dapat menghambat fungsi sintesis asam nukleat, dan

dapat menghambat metabolisme energi. Selain itu senyawa flavonoid sebagai antibakteri dapat menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri (Majidah *et al.*, 2014 dalam Dwicahyani, Sumardianto dan Rianingsih).

3. Kategori zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

Menurut Davis Stout, 1971 dalam Simanjuntak dan Butar, 2019 katagori diameter zona hambat diklasifikasikan menjadi 4 kelompok yaitu <5 mm sebagai katagori lemah, 6-10 mm sebagai katagori sedang, 11-20 mm sebagai katagori kuat, dan > 20 mm sebagai katagori sangat kuat. Berdasarkan Tabel 5, diameter zona hambat tersebut, maka kemampuan menghambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* konsentrasi 20 dan 40% termasuk kedalam kategori kemampuan menghambat lemah dan konsentrasi 60 dan 80% termasuk kategori kemampuan menghambat sedang.

Pada penelitian yang sudah dilakukan diameter zona hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 20% yaitu 3,20 mm termasuk kedalam katagori menghambat lemah, konsentrasi 40% yaitu 4,20 mm termasuk kedalam katagori menghambat lemah sedangkan konsentrasi 60% yaitu 5,58 mm termasuk kedalam katagori menghambat sedang dan konsentrasi 80% yaitu 6,75 mm termasuk kedalam katagori menghambat sedang.

Berdasarkan klasifikasi, diameter zona hambat yang terbentuk, diketahui bahwa kemampuan menghambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dapat dikategorikan sebagai kategori kemampuan menghambat lemah sampai sedang.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Indratama dan Yenita, 2019 tentang uji efektivitas antibiotik ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi l.*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori kuat hingga sangat kuat.

Dari hasil penelitian tersebut, diketahui bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menghasilkan diameter zona hambat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan bakteri gram positif. Bakteri gram positif memiliki kandungan peptidoglikan yang lebih tinggi, sementara bakteri gram negatif memiliki kadar lipid yang lebih tinggi. Struktur sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga senyawa antibakteri dapat masuk ke dalam sel dan menemukan target kerjanya. Struktur sel bakteri gram negative lebih kompleks dan terdiri dari tiga lapisan: lipopolisakarida, lipoprotein, dan peptidoglikan (Fachrial, Harmileni dan Anggraini, 2022).

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri adalah pH lingkungan, populasi jenis mikroba yang akan dibinasakan, komposisi media, temperatur, waktu kontak dan konsentrasi zat antimikroba itu sendiri. Konsentrasi zat anti mikroba mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, yang artinya jika konsentrasi zat antimikroba pada ekstrak daun belimbing wuluh berbeda maka pertumbuhan mikroba akan berbeda. Hal tersebut disebabkan konsentrasi yang lebih tinggi akan menyebabkan kematian mikroba yang lebih tinggi. Pada akhirnya, zona hambat yang berbeda pada masing-masing pertumbuhan bakteri akan ditunjukkan oleh variasi konsentrasi (Afifi, Erlin dan Rachmawati, 2018).

Selain itu faktor teknis juga dapat mempengaruhi aktifitas bakteri, antara lain komponen media, stabilitas obat, ukuran inokulum, waktu inkubasi, aktivitas metabolik mikroorganisme, kecepatan difusi bahan uji ke dalam media, kepekaan pertumbuhan bakteri, reaksi antara bahan aktif dengan media, suhu inkubasi, kepekatan inokulum, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi, ketebalan media agar, pengaturan jarak cakram antimikroba dan potensi cakram antimikroba (Novita, 2016 ,Andries, Gunawan, Supit, 2014 ; Kurniawan dan Aryana, 2015).

4. Perbedaan zona hambat berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

Uji statistik merupakan data diameter zona hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh berbagai variasi konsentrasi dilakukan dengan bantuan perangkat lunak komputer. Hasil uji statistik dengan uji *One Way Anova* nilai $p < \alpha$ ($0,000 < 0,05$) yang menunjukkan ada perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh.

Uji selanjutnya untuk mengetahui perbedaan pada konsentrasi pada zona hambat yang signifikan pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh dilakukan analisis data dengan uji LSD (*Least Significant Difference*) p ($0,000$) $< \alpha$ ($0,05$) yang menunjukkan kontrol, konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% yang berarti memiliki perbedaan diameter zona hambat yang bermakna antara masing-masing perlakuan.

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 20, 40, 60 dan 80% memiliki perbedaan diameter zona hambat yang bermakna.

Penelitian ini sudah berhasil menggambarkan potensi daun belimbing wuluh sebagai antibakteri dalam mengatasi karies gigi. Daun belimbing wuluh memiliki senyawa aktif yaitu alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid yang berfungsi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. Metode difusi cakram merupakan metode sederhana yang digunakan untuk menguji zona hambat yang terbentuk untuk mengetahui potensi antibakteri suatu bahan alam. Berdasarkan potensi antibakteri yang dimiliki, daun belimbing wuluh layak untuk dikembangkan menjadi obat antibakteri dalam mengatasi karies gigi.