

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik obyek penelitian

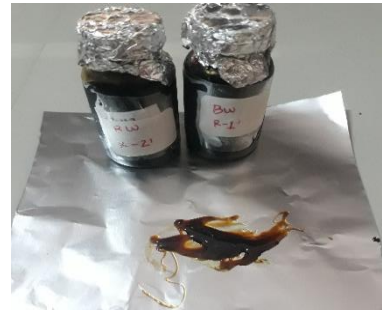
Obyek dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Gambar 7 (a)). Sampel yang digunakan adalah ekstrak buah belimbing wuluh yang diperoleh dari buah yang berwarna hijau hingga hijau kekuningan dengan ukuran 4-5,6 cm dengan replikasi sebanyak dua kali. Buah belimbing wuluh memiliki bentuk lonjong bulat persegi. Berat basah buah belimbing wuluh pada masing-masing replikasi adalah 2 kg. Setelah dikeringkan dibawah sinar matahari diperoleh berat kering pada replikasi I seberat 130 gram dan 125 gram pada replikasi II. Selanjutnya, dilakukan pengukuran kadar air terhadap buah belimbing wuluh yang telah kering untuk mengetahui kualitas simplisia yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh pada penentuan kadar air simplisia kering belimbing wuluh pada replikasi I adalah sebesar 8% dan 9,1% pada simplisia kering replikasi II (Lampiran 2). Kemudian, masing-masing sebanyak 100 gram simplisia kering dimaserasi dan diperoleh massa ekstrak pada replikasi I sebanyak 35,5 gram dan 41,5 g pada replikasi II.

Ekstrak buah belimbing wuluh (Gambar 7 (b)) berbagai konsentrasi dibuat dengan cara merendam simplisia dengan etanol 96% sebanyak 500 mL, lalu ekstrak pekat dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu 20, 40, 60, dan 80%. Ekstrak buah belimbing wuluh kemudian diuji daya hambatnya terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dibiakkan pada media MHA (*Muller Hinton Agar*). Daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh diketahui dengan adanya zona bening yang terbentuk

disekitar cakram disk. Zona bening tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan ekstrak belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.



7 (a)



7 (b)

Gambar 7. (a) Buah Belimbing Wuluh, (b) Ekstrak Buah Belimbing Wuluh

2. Diameter zona hambat ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Pada penelitian ini dilakukan uji daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh konsentrasi 20, 40, 60 dan 80% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Adapun hasil pengukuran diameter zona hambat minimum masing-masing perlakuan adalah sebagai berikut :

a. Kontrol Negatif

Pada penelitian ini digunakan etanol 96% sebagai kontrol negatif. Hasil pengukuran zona hambat minimum pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada etanol 96 % menunjukkan bahwa etanol 96 % tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

b. Perlakuan

Pada penelitian ini ekstrak buah belimbing wuluh diuji pada konsentrasi 20, 40, 60 dan 80%. Hasil pengukuran diameter zona hambat minimum ekstrak buah belimbing wuluh masing-masing konsentrasi adalah sebagai berikut :

1) Konsentrasi 20%

Diameter zona hambat minimum dari ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 20 % disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4
Diameter Zona Hambat Minimum pada Konsentrasi 20% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rerata
	Replikasi 1	Replikasi 2	
I	11,30	11,10	11,20
II	11,30	11,10	11,20
III	12,10	11,10	11,60
IV	12,10	11,30	11,71
Rerata±SD	11,7±0,46	11,15±0,10	11,42±0,26

Rerata diameter zona hambat minimum ekstrak buah belimbing wuluh konsentrasi 20% pada replikasi I adalah 11,70 mm dan replikasi II 11,15 mm. Diameter zona hambat terbesar pada replikasi I dan II adalah 12,10 mm, dan terkecil adalah 11,10 mm.

2) Konsentrasi 40%

Diameter zona hambat minimum dari ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 40 % disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5
Diameter Zona Hambat Minimum pada Konsentrasi 40% terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rerata
	Replikasi 1	Replikasi 2	
I	19,90	18,10	19,00
II	19,90	18,10	19,00
III	20,00	18,50	19,25
IV	20,00	18,50	19,25
Rerata±SD	19,95±0,06	18,30±0,23	19,12±0,14

Rerata diameter zona hambat minimum ekstrak buah belimbing wuluh konsentrasi 40% pada replikasi I 19,95 mm dan replikasi II 18,30 mm. Diameter zona hambat terbesar pada replikasi I dan II adalah 20,00 mm, dan terkecil adalah 18,10 mm.

3) Konsentrasi 60%

Diameter zona hambat minimum dari ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 60 % disajikan dalam Tabel 6.

Tabel 6
Diameter Zona Hambat Minimum pada Konsentrasi 60% terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rerata
	Replikasi 1	Replikasi 2	
I	25,00	24,40	24,70
II	25,10	23,00	25,05
III	25,10	25,00	25,05
IV	25,00	24,00	24,50
Rerata±SD	25,05±0,06	24,10±0,84	24,57±0,42

Rerata diameter zona hambat minimum ekstrak buah belimbing wuluh konsentrasi 60% pada replikasi I adalah 25,05 mm dan replikasi II 24,10 mm. Diameter zona hambat terlebar pada replikasi I dan II adalah 25, 10 mm, dan terkecil adalah 23,00 mm.

4) Konsentrasi 80%

Diameter zona hambat minimum dari ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 60 % disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7
Diameter Zona Hambat Minimum pada Konsentrasi 80% terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rerata
	Replikasi 1	Replikasi 2	
I	28,90	32,50	30,70
II	28,50	33,00	30,75
III	29,50	33,00	31,25
IV	29,50	33,00	31,25
Rerata±SD	29,10±0,49	32,87±0,25	30,99±0,30

Rerata diameter zona hambat minimum ekstrak buah belimbing wuluh konsentrasi 80% pada replikasi I adalah 29,10 dan replikasi II 32,87 mm. Diameter zona hambat terlebar pada replikasi I dan II adalah 33,00 mm, dan terkecil adalah 28,50 mm.

c. Kontrol positif

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik *Amoxicillin* 25 µg sebagai kontrol kontrol kerja. Diameter zona hambat minimum dari *Amoxicillin* 25µg disajikan dalam Tabel 8.

Tabel 8
Diameter Zona Hambat Minimum pada Kontrol Positif *Amoxicillin* 25 µg Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rerata
	Replikasi 1	Replikasi 2	
I	35,00	36,40	35,70
II	35,00	36,40	35,70
III	35,00	36,40	35,70
IV	35,00	36,40	35,70
Rerata±SD	35,00	36,40	35,70

Rerata diameter zona hambat minimum *Amoxicillin* 25 µg pada replikasi I adalah 29,10 dan replikasi II 32,87 mm. Diameter zona hambat terlebar pada replikasi I dan II adalah 33,00 mm, dan terkecil adalah 28,50 mm.

3. Kategori daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Rerata diameter zona hambat paling besar dihasilkan pada konsentrasi 80% yaitu sebesar 30,99 mm sedangkan diameter paling kecil terdapat pada konsentrasi 20% yaitu sebesar 11,43 mm. Hasil pengukuran diameter zona hambat minimum pada masing-masing konsentrasi uji dan kategori daya hambatnya disajikan dalam Tabel 9.

Berdasarkan tabel 9 dapat diketahui bahwa daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 20% dan 40% dikategorikan kedalam daya hambat kuat karena memiliki diameter zona hambat diatas 10 mm dan dibawah 20 mm. Sedangkan daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh pada konsentrasi 60 dan 80% dikategorikan sangat kuat dengan diameter zona hambat lebih dari 20 mm.

Tabel 9
 Rerata Diameter Zona Hambat Minimum Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh

Perlakuan Konsentrasi	Rerata Diameter Zona Hambat (mm)		Rerata (mm)	Interpretasi
	I	II		
	Kontrol	0	0	0
20%	11,70	11,15	11,43	Kuat
40%	19,95	18,30	19,13	Kuat
60%	25,05	24,10	24,58	Sangat Kuat
80%	29,10	32,87	30,99	Sangat Kuat
<i>Amoxicillin</i>	35,00	36,40	35,70	Sensitif

4. Hasil analisis data perbedaan daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Data hasil pengukuran zona hambat minimum pada masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh kemudian diolah dengan uji statistik *Kolmogrov Smirnov* untuk mengetahui normalitas data. Hasil uji *Kolmogrov Smirnov* diperoleh nilai $p = 0,476$. Apabila nilai ini dibandingkan dengan $\alpha (0,05)$ maka diketahui bahwa nilai p yang diperoleh lebih besar dari $\alpha (0,476 > 0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal.

Karena data berdistribusi normal maka uji dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan zona hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus*

pyogenes. Setelah dilakukan analisis dengan tingkat kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$, didapatkan nilai $p = 0,000$. Jika dibandingkan dengan $\alpha (0,05)$ maka diketahui bahwa p lebih kecil dari $\alpha (0,000 < 0,05)$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada berbagai konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh.

Perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat diketahui dengan uji lanjutan yaitu uji LSD (*Least Significant Deference*). Uji LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna antara masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh. Pada uji ini diperoleh nilai $p = 0,000 (p < \alpha)$ untuk konsentrasi 20% terhadap konsentrasi 40, 60 dan 80%; konsentrasi 40% terhadap 20, 60 dan 80%; konsentrasi 60% terhadap 20, 40 dan 80%; dan konsentrasi 80% terhadap 20, 40, dan 60%.

B. Pembahasan

1. Diameter zona hambat minimum ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui potensi antibakteri dari ekstrak buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Ekstrak buah belimbing wuluh diperoleh melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sehingga didapatkan ekstrak yang mengandung berbagai senyawa aktif. Etanol merupakan pelarut yang bersifat universal karena dapat melarutkan zat yang memiliki sifat polar, semipolar dan nonpolar sehingga

dapat menyari lebih banyak dibandingkan dengan pelarut lain. Pelarut etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Kurniawati, 2015).

Sebelum diekstraksi dengan etanol, buah belimbing wuluh terlebih dahulu dikeringkan untuk mengurangi kadar air. Hasil pengukuran menunjukkan kadar air yang didapatkan kurang dari 10% (Lampiran 2). Kadar air yang rendah akan menghindari tumbuhnya jamur atau bakteri sehingga simplisia yang diperoleh tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama (Kurniawati, 2015).

Ekstrak yang telah diperoleh kemudian diuji daya hambatnya pada berbagai konsentrasi dengan metode difusi Kirby-Bauer. Berdasarkan hasil pengamatan, semua konsentrasi ekstrak etanol buah belimbing wuluh memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Daya hambat dapat diketahui dari terbentuknya zona bening disekitar disk yang mengandung ekstrak belimbing wuluh. Pada metode ini, ekstrak pada disk akan berdifusi dan zat aktif yang terdapat di dalamnya akan menghambat pertumbuhan bakteri. Semakin luas zona bening yang terbentuk menunjukkan aktivitas penghambatan yang semakin besar. Zona bening tersebut kemudian diukur untuk mendapatkan zona hambat minimum dari masing-masing konsentrasi uji.

Hasil pengujian pada kontrol negatif menunjukkan tidak terbentuknya zona bening disekitar disk yang berarti tidak ada aktivitas penghambatan. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh. Selain itu, kontrol digunakan untuk mengetahui adanya faktor-faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat seperti kontaminasi, sterilisasi alat dan yang lainnya.

Pada penelitian ini digunakan etanol 96 % sebagai kontrol negatif. Etanol digunakan sebagai kontrol untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh etanol terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* yang juga digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi. Nilai nol tersebut menandakan kontrol yang digunakan sebagai pelarut tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, seluruh replikasi dan pengulangan terhadap kontrol tidak menghasilkan zona hambat. Pada penelitian Roslizawaty,dkk (2013) yang menguji Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* menggunakan etanol sebagai kontrol menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh pada etanol 96% tersebut sebesar 0,00 mm. Hasil negatif yang diperoleh disebabkan karena etanol 96% memiliki konsentrasi tinggi sehingga mudah menguap. Hasil ini menunjukkan bahwa kontrol yang mengandung etanol 96% dapat digunakan sebagai pengencer karena tidak mempengaruhi zona hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh.

Pada penelitian ini diuji empat konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* yaitu konsentrasi 20, 40, 60, dan 80% dimana masing-masing konsentrasi memiliki diameter zona hambat yang berbeda-beda. Berdasarkan hasil pengukuran, diketahui bahwa semua konsentrasi ekstrak etanol buah belimbing wuluh yang diujikan terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* menunjukkan adanya zona bening.

Konsentrasi 20% merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*. Konsentrasi 20% menghasilkan diameter zona hambat terkecil yaitu 11,10 mm dan diameter paling besar adalah

12,10 mm, sehingga rerata diameter zona hambat yang didapat pada konsentrasi 20% adalah 11,42 mm yang merupakan rerata paling kecil diantara konsentrasi lainnya yang digunakan pada penelitian ini. Konsentrasi 40% menghasilkan diameter zona hambat terkecil yaitu 18,10 mm dan diameter paling besar adalah 20,00 mm, sehingga rerata diameter zona hambat yang didapat pada konsentrasi 40% adalah 19,12 mm. Konsentrasi 60% menghasilkan diameter zona hambat terkecil yaitu 23,00 mm dan diameter paling besar adalah 25,10 mm, sehingga rerata diameter zona hambat yang didapat pada konsentrasi 60% adalah 24,57 mm.

Konsentrasi 80% merupakan konsentrasi tertinggi yang dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*. Zona hambat paling kecil yang diperoleh 28,50 mm dan diameter paling besar adalah 33,00 mm, sehingga rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% adalah 30,99 mm .

Pada masing-masing konsentrasi tersebut terbentuk diameter zona hambat yang berbeda-beda. Terbentuknya zona hambat pada masing-masing konsentrasi tersebut diakibatkan karena di dalam ekstrak buah belimbing wuluh mengandung banyak senyawa sebagai zat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. Buah belimbing wuluh mengandung berbagai senyawa aktif yang berperan sebagai anti mikroba seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin (Gendrowati, 2015).

Flavonoid merupakan salah satu antimikroba yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur (Rahayu, 2013). Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara inaktivasi protein pada membran sel. Sebagian

besar struktur sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan pengangkutan aktif, yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul dan ion dari sel. Sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya (Ajizah, 2004 dalam Virgianti and Purwati, 2015)

Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida. Hal ini akhirnya mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis (Kurniawan dan Aryana, 2015).

Tanin ini mampu merusak membran sel bakteri. Tanin yang terdapat pada ekstrak buah belimbing wuluh kontak dengan membran sel bakteri, kemudian mengaktifasi enzim dan merusak fungsi materi genetik sel bakteri. Sehingga dalam keadaan tersebut, sel bakteri disekitar kertas cakram akan mengalami kerusakan (tidak tumbuh) dan akhirnya terbentuk zona jernih atau zona hambat disekitar kertas cakram (Sumardjo, 2009).

Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah cakram antibiotik *Amoxicillin* yang digunakan sebagai kontrol kerja. Pada penelitian ini didapatkan nilai rerata diameter zona hambat cakram disk antibiotik *Amoxicillin* sebesar 35,70 mm. Hasil tersebut menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) termasuk ke dalam kategori sensitif sehingga isolat bakteri yang digunakan dan prosedur yang dilakukan dalam penelitian ini telah memenuhi standar dalam pengujian daya hambat zat antibakteri. *Amoxicillin* masih efektif terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan diameter zona hambat minimal adalah > 24 mm.

Sehingga termasuk ke dalam kategori sensitif (CLSI, 2017). *Amoxicillin* adalah antibiotik spektrum luas yang banyak digunakan untuk mengobati penyakit manusia dan hewan, dan termasuk kedalam kelompok yang tidak mengalami perubahan saat diekskresikan dalam urin dan feses. *Amoxicillin* adalah obat semi sintetis, yang termasuk dalam golongan antibiotik yang disebut penisilin (antibiotik β -laktam). Obat ini telah terbukti efektif terhadap berbagai macam infeksi yang disebabkan bakteri gram positif dan gram negatif dan digunakan untuk pengobatan dan pencegahan infeksi bakteri saluran pernapasan, gastrointestinal, kencing dan kulit karena sifat farmakologis dan farmakokinetiknya (Elizalde *dkk*, 2016).

2. Kategori daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Pada berbagai macam konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh terbentuk zona hambat minimum dengan diameter yang berbeda-beda. Semakin besar konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh, maka semakin besar pula diameter zona hambat yang ditunjukkan terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh, maka semakin besar pula daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh semakin pekat larutan tersebut dan semakin banyak pula jumlah zat-zat antimikroba yang terkandung didalamnya. Bila zat antimikroba di dalam buah belimbing wuluh semakin besar, maka semakin banyak pula bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dirusak baik itu struktur tubuh maupun sistem metabolismenya, sehingga bakteri yang terkena oleh

zat antimikroba tersebut akan mati atau dihambat pertumbuhannya (Virgianti and Purwati, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada berbagai konsentrasi mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram. Menurut Susanto, dkk. (dalam Permadani, Puguh dan Sarwiyono, 2014), jika diameter zona hambat lebih dari 20 mm, maka ekstrak dikategorikan memiliki daya hambat sangat kuat, jika diameter zona hambat berada pada rentang 11-20 mm, maka ekstrak dikategorikan memiliki daya hambat kuat, dan jika pada rentang 5-10 mm dikatakan memiliki daya hambat sedang, sedangkan jika diameter zona hambat kurang dari 5 mm, maka ekstrak di kategorikan memiliki daya hambat lemah. Sehingga pada konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 20 dan 40% dapat dikatakan memiliki daya hambat kuat, 60 dan 80% memiliki daya hambat sangat kuat. Sedangkan pada kontrol etanol 96% memiliki daya hambat lemah atau bisa dikatakan tidak terdapat zona hambat yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar cakram dengan nilai yang terukur yaitu 0,00 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa kontrol yang mengandung etanol 96% yang digunakan sebagai pengencer tidak mempengaruhi zona hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi.

Berbagai penelitian lain juga telah dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh terhadap berbagai bakteri. Pada penelitian Rahmiati (2016) yang menguji Daya hambat Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* menunjukan konsentrasi 25% dengan rata-rata diameter zona hambat 10,1 mm, konsentrasi 50%

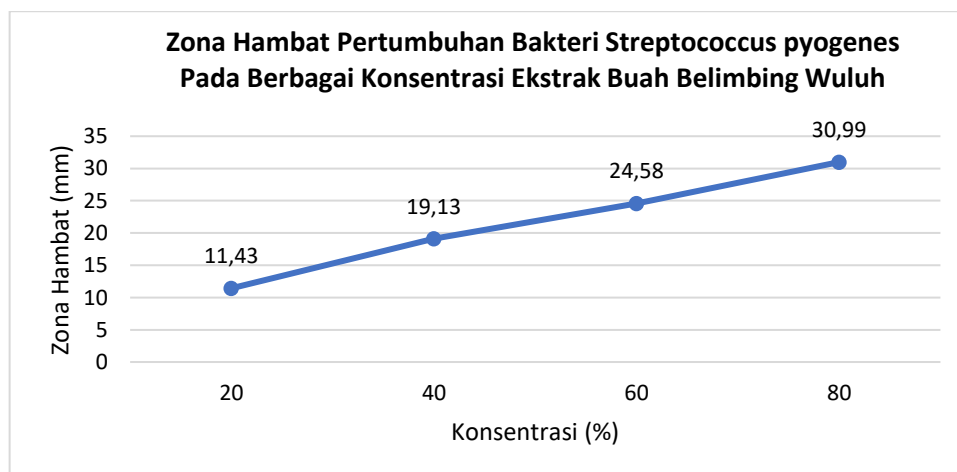
dengan rata-rata diameter zona hambat 15,1 mm, konsentrasi 75% dengan rata-rata diameter zona hambat 18,1 mm, konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat 20,1 mm. Sehingga pada konsentrasi 25, 50 dan 75% termasuk kedalam kategori daya hambat kuat, dan konsentrasi 100% sangat kuat (Rahmiati, 2016).

Pada penelitian Rahmiati, Darmawati and Mukaromah (2017) yang menguji Daya Hambat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan konsentrasi 10,20, 30 dan 40% menunjukkan keempat konsentrasi uji menghasilkan diameter zona hambat lebih besar dari 20 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Sehingga zona hambat tersebut termasuk kedalam kategori daya hambat sangat kuat (Rahmiati, Darmawati and Mukaromah, 2017).

Pada hasil juga memperlihatkan, semakin tinggi konsentrasi, semakin besar zona hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Prawata dan Dewi (2008) dalam (Roslizawaty dkk, 2013), bahwa efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

3. Perbedaan daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*

Hasil pengukuran zona hambat menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dari konsentrasi 20% hingga 80%. Setelah dilakukan analisis dengan tingkat kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$ didapatkan nilai sig ($p = 0,000$) (Lampiran 3). Jika dibandingkan dengan α (0,05) maka diketahui bahwa p lebih kecil dari α ($0,000 < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada berbagai konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh. Uji LSD menunjukkan nilai sig ($p = 0,000$) (Lampiran 3), sehingga $p < \alpha$ bahwa ada perbedaan yang bermakna antara masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh, untuk konsentrasi 20% terhadap konsentrasi 40, 60 dan 80%; konsentrasi 40% terhadap 20, 60 dan 80%; konsentrasi 60% terhadap 20, 40 dan 80%; dan konsentrasi 80% terhadap 20, 40, dan 60%.



Gambar 8. Perbedaan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus pyogenes* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh

Gambar 8 menunjukkan adanya perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dari konsentrasi 20% hingga 80%. Peningkatan diameter zona hambat dari konsentrasi 20% ke 40% sebesar 7,73 mm, dari konsentrasi 40% ke 60% sebesar 5,41 mm, dari konsentrasi 60% ke 80% sebesar 6,41 mm. Dari data diatas diketahui bahwa peningkatan terbesar terjadi pada konsentrasi 20% ke konsentrasi 40% yaitu sebesar 7,73 mm. Gambar grafik tersebut membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasinya maka semakin banyak kandungan zat aktif yang terkandung sehingga zona hambat yang terbentuk semakin luas. Semakin besar konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh, maka semakin besar pula diameter zona hambat yang ditunjukkan terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* (Virgianti and Purwati, 2015).

Pada penelitian ini, pada masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh dapat membentuk diameter zona hambat yang berbeda-beda. Hal ini dikarenakan pada masing-masing konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh mengandung zat aktif yang berbeda-beda. Perbedaan kadar zat aktif ini diakibatkan karena massa ekstrak buah belimbing wuluh berbeda-beda pada masing-masing konsentrasi. Semakin berat massa ekstrak yang ditimbang maka semakin tinggi konsentrasi yang dibuat. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin banyak pula kandungan zat aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut. Berdasarkan hasil penelitian daya hambat ekstrak buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* pada konsentrasi 20, 40, 60 dan 80% menunjukkan terbentuknya zona hambat. Berdasarkan data tersebut konsentrasi 80% ekstrak buah belimbing wuluh merupakan konsentrasi yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Pada penelitian terkait dengan judul Daya hambat Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Secara In Vitro, hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan zona hambat pada masing-masing perlakuan yaitu konsentrasi 25% dengan rata-rata diameter zona hambat 10,1 mm, konsentrasi 50% dengan rata-rata diameter zona hambat 15,1 mm, konsentrasi 75% dengan rata-rata diameter zona hambat 18,1 mm, konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat 20,1 mm (Rahmiati, 2016).

Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan zona hambat pada uji daya hambat ini adalah ketebalan media, pembuatan konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh. Uji daya hambat biasanya dikerjakan menggunakan cawan petri ukuran 9 – 10 cm dan tidak lebih dari 6 atau 7 cakram antimikroba pada tiap lempeng agar. Zona hambat yang sangat besar mungkin terbentuk pada media yang sangat tipis, dan sebaliknya berlaku untuk media yang tebal. Perubahan kecil dalam ketebalan lapisan agar efeknya dapat diabaikan. Pengaturan jarak yang tepat sangat penting untuk mencegah tumpang tindihnya zona hambatan atau deformasi didekat tepi-tepi lempeng. Diameter zona hambatan terkait dengan jumlah zat dalam cakram. Jika potensi zat berkurang akibat pembuatan seri konsentrasi yang kurang tepat, zona hambatan akan menunjukkan pengurangan ukuran yang sesuai (Brooks *et al*, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dan ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada berbagai konsentrasi memiliki perbedaan zona hambat, sehingga berpotensi dikembangkan

sebagai zat antibakteri. Adapun keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak melakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan pengenceran.