

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Deskripsi Belimbing Wuluh

Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam keluarga Averrhoa yang tumbuh di daerah ketinggian hingga 500 m di atas permukaan laut dan dapat ditemui di tempat yang banyak terkena sinar matahari langsung tetapi cukup lembab (Parikesit, 2011). Pada umumnya belimbing wuluh ditanam dalam bentuk tanaman pekarangan atau tanaman peneduh di halaman rumah (Parikesit, 2011). Pohon yang berasal dari Amerika tropis ini menghendaki tempat tumbuh yang terkena cahaya matahari langsung dan cukup lembab (Wijayakusuma dan Dalimartha, 2006).

Pohonnya memiliki tinggi hingga 10 m dengan batang tidak begitu besar, kasar berbenjol-benjol dan mempunyai garis tengah sekitar 30 cm. Percabangan sedikit, arahnya condong ke atas, cabang muda berambut halus seperti beludru berwarna coklat muda. Bunga berupa malai, berkelompok, keluar dari batang atau cabang yang besar. Buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi, panjang 4 - 6,5 cm, warnanya hijau kekuningan, bila masak berair banyak dan rasanya masam. Bijinya berbentuk bulat telur (Wijayakusuma dan Dalimartha, 2006). Pohon belimbing wuluh ditunjukkan oleh Gambar 1.

Daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata. Panjang daun 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau, permukaan bawah warnanya lebih muda (Wijayakusuma dan

Dalimartha, 2006). Klasifikasi ilmiah tanaman belimbing wuluh sebagai berikut (Dasuki, 1991).

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Oxalidaceae
Marga	: <i>Averrhoa</i>
Jenis	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L



Gambar 1. Kulit Batang Belimbing Wuluh berwarna coklat tua dan permukaannya tidak rata karena bergelombang. Daun belimbing wuluh berbentuk bulat telur dengan ujung agak runcing dan berwarna hijau tua (Sumber : Soekardi, 2015)

## B. Fitokimia Daun dan Kulit Batang Belimbing Wuluh

Pada sel daun terdapat vakuola yang di dalamnyaterdapat air, namun dapat terlarut berbagai zat seperti gula, berbagai garam, protein, alkaloid, zat penyamak atau tanin dan zat warna. Jumlah tanin dapat berubah-ubah sesuai dengan musim serta pigmen dalam vakuola adalah flavonoid (Hidayat, 1995).

Daun belimbing wuluh mengandung tanin, sulfur, asam format dan peroksida (Wijayakusuma dan Dalimarta, 2006). Peroksida merupakan

senyawa pengoksidasi yang reaksinya mampu membunuh mikroorganisme (Soekardjo, 1995). Berdasarkan penapisan fitokimia, simplisia ekstrak etanol daun belimbing wuluh mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin, sedangkan kulit batang belimbing wuluh mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin. Daya antibakteri daun dan kulit batang belimbing wuluh diperoleh dari kandungan zat aktifnya antara lain flavonoid, alkaloid, dan saponin serta tanin pada daun (Lidyawati dan Ruslan, 2006).

Flavonoid memiliki kemampuan antibakteri melisiskan dinding sel dengan cara menggumpalkan protein, bersifat lipofilik, sehingga lapisan lipid membran sel bakteri akan rusak (Christianto, 2012; Monalisa dkk., 2011). Kandungan zat aktif lainnya yaitu tanin memiliki kemampuan mengganggu metabolisme dan permeabilitas dinding sel bakteri, akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan mati (Ajizah, 2004). Tanin juga memiliki daya antibakteri melalui reaksi dengan membran sel dan inaktivasi enzim beta-laktamase (Masduki, 1996).

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) juga mengandung zat aktif saponin. Saponin merupakan senyawa yang bersifat antibakteri dengan melisiskan membran sel bakteri. Membran sel berfungsi sebagai jalur keluar masuknya bahan-bahan penting yang dibutuhkan oleh sel. Apabila fungsi membran sel mengalami kerusakan akan mengakibatkan sel tersebut mati (Ajizah, 2004). Beberapa jenis senyawa yang dijumpai dalam daun dan kulit batang belimbing wuluh yaitu:

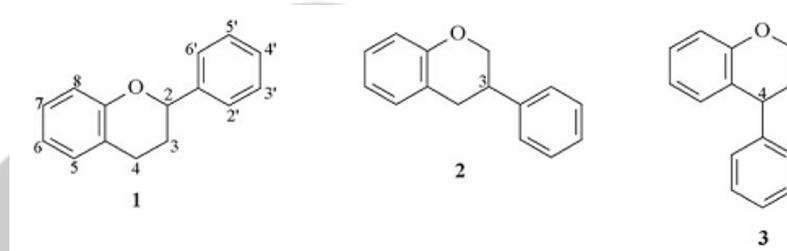
## 1. Flavonoid

Menurut Marais dkk. (2006) flavonoid biasanya digunakan untuk menjelaskan produk yang dihasilkan tanaman yang termasuk ke dalam senyawa dengan rumus kimia  $C_6-C_3-C_6$ . Flavonoid memiliki ikatan glikosida yang dapat didegradasi oleh aktifitas enzim yang didapatkan dari bahan tanaman baik dalam bentuk segar maupun kering. Ekstraksi flavonoid dibutuhkan pelarut yang sesuai dengan kepolarannya. (Marston dan Hostettmann, 2006).

Menurut Harborne (1987), flavonoid merupakan senyawa fenol dan umumnya terdapat dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid. Ikatan senyawa flavonoid dengan gula menyebabkan banyaknya bentuk kombinasi (misalnya glikosida) yang dapat terjadi di dalam tumbuhan. Flavonoid merupakan senyawa polar, maka flavonoid umumnya larut dalam pelarut etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air, dan lain-lain (Markham, 1988). Flavonoid di alam merupakan senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan menggunakan etanol 70%. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air (Markham, 1988).

Flavonoid yang terdiri dari rangkai karbon  $C_6-C_3-C_6$ , memiliki beberapa bentuk dasar, yang dilihat dari posisi cincin aromatiknya.

Menurut Grotewold (2006), flavonoid dibagi menjadi tiga bentuk dasar antara lain ditunjukkan oleh Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Flavonoid (Keterangan : 1. Flavonoid, 2. Isoflavonoid, dan 3. Neoflavonoid) (Sumber :Grotewold, 2006)

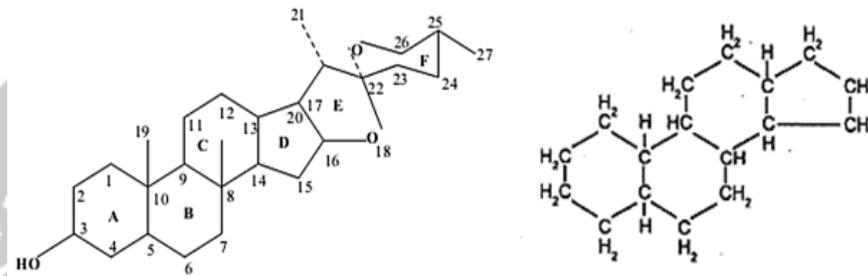
Kegunaan dari flavonoid bagi kesehatan diantaranya adalah menangkal radikal bebas, mengikat logam dalam tubuh, menstimulus sistem imun, mencegah nitrosasi tirosin, sebagai antialergi, antibakterial, dan antikarsinogenik (Merken dkk., 2001).

## 2. Saponin

Saponin merupakan glikosida triterpena dan sterol yang terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah merah (Harborne, 1987). Saponin terdiri dari glikosida yang aglikonnya disebut sapogenin (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Menurut struktur dari aglikonnya, saponin dibedakan menjadi dua macam, yaitu saponin steroid dan saponin triterpenoid (Gambar 3). Saponin steroid tersusun dari suatu aglikon steroid (sapogenin) yang terikat pada suatu oligosakarida yang biasanya heksosa dan pentosa mudah larut dalam air dan alkohol, tetapi tidak larut dalam eter

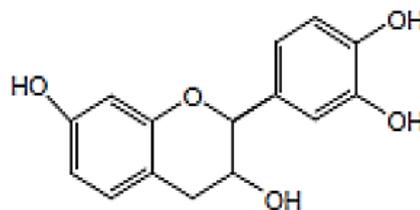
(Farnsworth, 1966). Saponin triterpenoid mengandung aglikon triterpen dan satu (atau lebih) bagian gula (seperti heksosa, metilpentosa, dan pentosa) di dalamnya (Khakimov dkk., 2016).



Gambar 3. Struktur Saponin Steroid (kiri) dan Saponin Triterpenoid (kanan) (Sumber : Sumardjo, 2009)

### 3. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan bersifat polar (Hagerman, 2002). Tanin ada dalam tumbuhan berpembuluh, pada angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Pada kulit kayu tidak ditemukan senyawa tanin, karena kulit kayu merupakan bagian dari parenkim dasar dan berperan dalam pertumbuhan ke arah luar. Tanin memiliki efek beragam pada sistem biologis karena dapat mengendapkan protein sehingga dinding bakteri menggumpal (Hagerman, 2002 ; Harborne, 1987). Struktur tanin ditunjukkan Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Inti Tanin (Sumber: Robinson, 1995)

### C. Maserasi sebagai Metode Ekstraksi Senyawa

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa terlarut (*solut*) ke dalam pelarut (*solvent*). Senyawa polar dapat terlarut oleh pelarut polar, sedangkan senyawa non-polar dapat terlarut oleh pelarut non-polar. Sifat tersebut dikenal dengan istilah *like dissolve like* (Pecsok dkk., 1976). Menurut Harborne (1987), metode ekstraksi dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu ekstraksi sederhana dan ekstraksi khusus. Ekstraksi sederhana terdiri dari maserasi, perkolasi, reperkolasi, evakolasi, dan dialokasi. Ekstraksi khusus terdiri dari sokletasi, arus balik, dan ultrasonik (Harborne, 1987).

Pemilihan metode ekstraksi yang sesuai sangat menentukan keberhasilan dan efisiensi ekstraksi yang dilakukan, sehingga diperlukan pertimbangan yang tepat untuk memilih metode ekstraksi. Salah satu parameter yang harus diperhatikan adalah konstituen kimia yang terkandung dalam simplisia yang meliputi karakteristik kepolaran dan sifat termolabil senyawa aktif dalam simplisia (Handa, 2008). Selain itu, waktu ekstraksi juga menjadi parameter yang krusial, karena dengan waktu yang terlalu singkat ekstraksi belum terjadi dengan sempurna, sedangkan jika waktu ekstraksi terlalu berlebih dapat menimbulkan resiko ikut terekstraknya konstituen lain yang sebenarnya tidak diinginkan (Handa, 2008).

Maserasi kinetik dilakukan dengan pengadukan yang kontinu. Selain itu, dikenal juga istilah remaserasi yang berarti pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Menggunakan metode

ini, serbuk simplisia beserta pelarutnya dimasukkan dalam wadah tertutup, lalu dibiarkan pada suhu ruang ( $27^{\circ}\text{C}$ ) minimal selama 3 hari, sehingga metode ini sederhana dan mudah dilakukan (Handa, 2008; Meloan, 1999).

Sebelum diekstrak, simplisia harus dikeringkan terlebih dahulu. Pengeringan tumbuhan dilakukan dalam keadaan terawasi untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang terlalu banyak. Tumbuhan yang dikeringkan harus dilakukan secepat-cepatnya dengan aliran udara yang baik. Setelah tumbuhan kering, tumbuhan dapat disimpan untuk jangka waktu yang lama sebelum dianalisis (Harborne, 1987). Ekstraksi menggunakan pelarut yang sedikit dan dilakukan berulang kali akan menghasilkan hasil ekstraksi yang lebih baik daripada ekstraksi satu kali dengan pelarut yang banyak (Pecsok dkk., 1976).

Menurut Darwis (2000), maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada suhu ruangan ( $27^{\circ}\text{C}$ ). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang digunakan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut (Darwis, 2000).

Kelebihan metode maserasi menurut Tiwari dkk. (2011) yaitu metodenya sederhana, tidak memerlukan alat yang rumit, relatif murah, dan dengan metode ini dapat menghindari kerusakan komponen senyawa karena tidak menggunakan panas sehingga baik untuk sampel yang tidak tahan panas. Kelemahan metode ini antara lain adalah dari segi waktu yang lebih lama dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut yang digunakan relatif banyak. Menurut Voigt (1994), pembuatan ekstrak dengan metode maserasi mengikuti syarat yaitu bahan dihaluskan dengan cara dipotong-potong atau dibuat serbuk, kemudian disatukan dengan bahan pengekstraksi.

#### **D. Pelarut yang digunakan saat Ekstraksi**

Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan etanol. Etanol merupakan pelarut yang netral terhadap senyawa yang terkandung dalam simplisia dan mampu mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri (Ansel, 1989). Etanol 70% dipilih karena bersifat semi-polar, diharapkan zat-zat seperti saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan steroid dapat tersari berdasarkan sifat kepolaran masing-masing (Harper, 2004).

Dalam ekstraksi dapat digunakan berbagai macam pelarut, pelarut yang digunakan dalam mengekstraksi senyawa dapat dipertimbangkan berdasarkan suhu didihnya agar mudah dihilangkan (Agoes, 2007). Farida dan Nisa (2015) menyatakan bahwa ekstraksi dilakukan dengan memperhatikan suhu degradatif senyawa yang diinginkan dan kestabilannya.

Menurut Pecsok dkk. (1976) ekstraksi dapat memisahkan dua atau lebih senyawa tergantung pada perbedaan dalam koefisien penyebaran (*distribution coefficients*) atau konstanta dielektrikum (*Dielectric Constant*) yang dimiliki pelarut tersebut (Tabel 1).

Tabel 1. Berbagai pelarut yang umum digunakan dalam ekstraksi

<b>Pelarut</b>	<b>Titik didih (°C)</b>	<b>Titik beku (°C)</b>	<b>Konstanta dielektrikum (Debye unit)</b>
Diethyl ether	35	-116	4,3
Acetone	56	-95	20,7
Chloroform	61	-64	4,8
Metanol	65	-98	32,6
Ethyl acetate	77	-84	6,0
Ethanol	78	-117	24,3
Benzene	80	5,5	2,3
Isopropanol	82	-89	18,3
Air	100	0	78,5

Sumber : Pecsok dkk. (1976)

Berdasarkan nilai konstanta dielektriknya, pelarut organik dapat dibedakan menjadi dua golongan yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar (Lide, 2005). Konstanta dielektrik atau permitivitas merupakan nisbah antara perpindahan partikel elektrik dalam suatu medium dengan kekuatan medan listriknya (Lide, 2005). Konstanta dielektrik dapat memberi gambaran kasar mengenai polaritas suatu pelarut karena semakin tinggi konstanta dielektrik suatu pelarut, polaritas senyawa tersebut juga semakin besar (Jacob dan de la Torre, 2015).

Penelitian Pendit dkk. (2016) menunjukkan nilai rerata aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh tertinggi diperoleh dari perlakuan pelarut etanol 70% dan rasio bahan:pelarut (b/v) 1:5 sebesar 13,13 mm. Sedangkan nilai rerata aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh

terendah diperoleh dari perlakuan pelarut air dan rasio bahan:pelarut (b/v) 1:4 sebesar 11,38 mm. Hal ini karena senyawa antibakteri (saponin, tanin, dan flavonoid) yang terkandung di dalam ekstrak daun belimbing wuluh lebih larut ke dalam pelarut etanol dibandingkan dengan pelarut air karena kepolaran senyawa target (saponin, tanin, flavonoid) sama dengan etanol. Kemampuan ekstrak dari jenis pelarut yang berbeda terhadap aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh senyawa antibakteri yang bersifat polar (hidrofilik) dan non-polar (hidrofobik) (Parekh dkk., 2005).

Etanol merupakan pelarut yang memiliki sifat semipolar. Hal ini menyebabkan komponen aktif dengan kepolaran yang beragam dapat terekstraksi lebih sempurna. Menurut Harborne (1987), golongan senyawa flavonoid dan tanin serta saponin dapat diekstraksi dengan baik menggunakan etanol 70% karena polaritas sama.

#### **E. Arti, Fungsi, dan Mekanisme Antibakteri**

Antibakteri adalah senyawa kimia yang digunakan untuk memusnahkan bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia (Pelczar dan Chan, 1988). Menurut Ganiswara (1995), berdasarkan mekanisme kerjanya antibakteri dibagi dalam 4 kelompok antara lain:

1. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri.

Mekanismenya yaitu dengan cara menghambat sintesis peptidoglikan. Peptidoglikan merupakan suatu kompleks glikopeptida penyusun dinding sel, sehingga pembentukan dinding sel terhambat (Yuniningsih, 2007).

2. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri.

Antibakteri akan bereaksi dengan fosfolipid dan fosfat dari membran sel untuk mengganggu keutuhan membran. Hal tersebut dapat mengubah tegangan permukaan dan dapat memengaruhi permeabilitas selektif dari bakteri (Yuniningsih, 2007).

3. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.

Sintesis asam nukleat dihambat dengan cara antibakteri akan berikatan pada enzim RNA *polymerase* sehingga RNA tidak dapat tersintesis (Ganiswara, 1995).

4. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri.

Mekanismenya yaitu dengan terikatnya antibakteri dengan ribosom 30S, sehingga menyebabkan kesalahan dalam pembacaan kode pada mRNA pada waktu sintesis. Kemudian, kompleks tRNA asam amino pada lokasi sintesis akan terhalang (Yuniningsih, 2007).

Dewasa ini, antibakteri berbahan kimia menjadi pilihan teratas masyarakat untuk menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Namun, terdapat kekhawatiran akan adanya kemungkinan efek samping dari antibakteri berbahan kimia yakni menyebabkan bakteri menjadi resisten (Ratna dkk., 2016). Misalnya, pada ampisilin akan berikatan dengan PBPs (*Penicillin Binding Proteins*, berfungsi untuk sintesis dinding sel) pada sel bakteri sehingga dinding sel akan lisis kemudian bakteri akan mati. Penyebab bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik adalah keberadaan enzim beta-laktamase yang menghidrolisis cincin beta-laktam (Ratna dkk., 2016; Coyle, 2005). Hal tersebut melatarbelakangi para peneliti untuk membuat antibakteri

yang berasal dari alam, salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah belimbing wuluh terutama pada bagian daun dan kulit batang (Lidyawati dan Ruslan, 2006; Ajizah, 2004).

Bahan antibakteri dapat diartikan sebagai bahan yang mampu mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri (Pelczar dan Chan, 1998). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisida atau bahan yang mampu membunuh bakteri bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Suryaningrum, 2009).

Brunton dan Parker (2006), Pratiwi (2009), dan Yuniningsih (2007) menjabarkan beberapa mekanisme kerja antimikrobia yaitu menghambat metabolisme sel, sintesis dinding sel, mengganggu keutuhan membran sel, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat bakteri. Mekanisme kerja antibakteri secara jelas adalah sebagai berikut,

1. Antibakteri menghambat metabolisme sel dengan menghambat metabolisme sel untuk menghasilkan asam folat dan asam paraaminobenzoat (PABA) yang dibutuhkan bakteri untuk bertumbuh dan berkembang. Penghambatan dilakukan dengan dua cara yaitu

dengan penggabungan antibakteri dengan PABA sehingga terbentuk asam folat yang non-fungsional. Hal ini menyebabkan bakteri berhenti bertumbuh (Yuniningsih, 2007).

2. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri Gram positif maupun Gram negatif yaitu dengan menghambat sintesis peptidoglikan yaitu suatu kompleks glikopeptida yang menyusun dinding sel, dengan cara menghambat sintesis dari awal pembentukan dinding sel. Antibakteri mengganggu keutuhan membran sel dengan cara bereaksi dengan fosfat dan fosfolipid dari membran sehingga kadar fosfornya menurun. Hal ini menyebabkan dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis (Yuniningsih, 2007; Brunton dan Parker, 2006).
3. Antibakteri menghambat sintesis protein sel dengan cara berikatan dengan ribosom 30S sehingga kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis akibatnya akan menghalangi kompleks tRNA asam amino pada lokasi sintesis. Antibakteri menyebabkan terhalangnya sintesis protein (Yuniningsih, 2007; Pratiwi, 2009).
4. Antibakteri bekerja secara langsung pada membran sel mikroorganisme dan meningkatkan permeabilitas sehingga terjadi kebocoran senyawa intraseluler. Membran plasma bersifat semipermeabel dan bertugas untuk mengendalikan transportasi berbagai metabolit masuk ke dalam dan keluar sel. Adanya gangguan menyebabkan proses biosintesis yang diperlukan dalam membran terhambat (Pratiwi, 2009).

5. Antibakteri memengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri. Penghambatannya pada sintesis asam nukleat ditandai dengan terhambatnya proses transkripsi dan replikasi mikroorganisme (Pratiwi, 2009).

#### F. Bakteri yang diujikan dalam Penelitian

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri batang Gram negatif yang tidak dapat memfermentasikan karbohidrat seperti glukosa, sukrosa, dan laktosa. Dapat mereduksi nitrat dan katalase positif. Suhu pertumbuhan optimum adalah 35°C, tetapi dapat tumbuh juga pada suhu 42°C (Jawetz dkk., 2007). *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bulat, halus dengan tepi transparan (Jawetz dkk., 2007). *Pseudomonas aeruginosa* bersifat anaerob fakultatif dan dapat bergerak (motil) (Breed dkk., 1957).

*Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi pernafasan, saluran kemih, pencernaan, dan jaringan kulit (Phee dkk., 2012). *P. aeruginosa* umumnya dapat dimatikan menggunakan penisilin anti-*pseudomonas* misalnya seperti karbenisilin, tikarsilin, sefalosporin, dan aminoglikosida serta senyawa karboksikuinolon berfluor (Phee dkk., 2012).

Sistematika *Pseudomonas aeruginosa* menurut National Center of Biotechnolgy Information (2016) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Monera  
 Filum : Proteobacteria  
 Kelas : Gamma Proteobacteria  
 Bangsa : Pseudomonadales  
 Suku : Pseudomonadaceae  
 Marga : *Pseudomonas*  
 Jenis : *Pseudomonas aeruginosa*

*Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri yang berbentuk bola, berukuran 0,5 – 0,6 µm. Bakteri ini bersifat Gram positif, non-motil, fakultatif anaerob dan memiliki suhu optimum 37°C. *Staphylococcus epidermidis* memiliki bentuk koloni bulat (*sphere*) dengan tepi koloni transparan. Bakteri ini dapat memfermentasikan karbohidrat (glukosa, sukrosa, dan laktosa), dapat mereduksi nitrat, dan katalase positif (Breed dkk., 1957). Bakteri ini biasa diatasi dengan antibiotik tetrasiklin, penisilin, streptomisin, ampisilin, eritromisin dan kloramfenikol (Breed dkk., 2001). Sistematika *Staphylococcus epidermidis* menurut Breed dkk. (2001) adalah:

Kingdom : Monera  
Filum : Firmicutes  
Kelas : Bacilli  
Bangsa : Bacilliales  
Suku : Staphylococcaceae  
Marga : Staphylococcus  
Jenis : *Staphylococcus epidermidis*

#### **G. Uji Aktivitas Antibakteri**

Pengujian daya antibakteri dapat dilakukan baik pada medium agar maupun pada medium cair. Pengujian daya antibakteri pada medium agar dikenal juga sebagai metode difusi agar (*agar diffusion method*) atau yang juga disebut metode Kirby-Bauer. Pengujian daya antibakteri pada medium cair dilakukan dengan menentukan jumlah terkecil dari senyawa uji yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobia uji dan disebut juga Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Madigan dkk., 2015).

Pengamatan potensi antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi cair. Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan. Cakram

kertas saring berisi sejumlah tertentu ekstrak atau senyawa target (saponin, flavonoid, dan tanin) yang ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi dengan bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambat di sekitar cakram digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz dkk, 2007). Zona hambat merupakan daerah yang terbentuk pada medium sebagai akibat terhambatnya pertumbuhan bakteri karena adanya senyawa antibakteri atau antimikroba (Volk dan Wheeler, 1993).

Penggunaan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100% pada ekstrak daun belimbing wuluh dikarenakan pada penelitian serupa yang dilakukan oleh Aditya (2012) menggunakan konsentrasi 6,25, 12,5, 25, dan 50% untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa konsentrasi 25 dan 12,5% dapat menghambat kedua bakteri, namun hanya efektif pada bakteri Gram positif. Penelitian ini dicoba dengan menaikkan konsentrasi di atas 25 dan 12,5% dengan harapan ekstrak akan efektif menghambat pertumbuhan bakteri dari golongan Gram negatif dan positif.

## H. Hipotesis

1. Luas zona hambat ekstrak etanol daun dan kulit batang belimbing wuluh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah dan *Staphylococcus epidermidis* adalah 12,17 dan 10,2 mm .
2. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) yang paling baik dari ekstrak etanol 70% daun dan kulit batang belimbing wuluh adalah 25%.

3. Total flavonoid ekstrak daun dan kulit batang belimbing wuluh adalah 0,99 dan 0,67 % b/b.

