

**UJI ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae***



KARYA TULIS ILMIAH

**OLEH
ALVI DIAH HAPSARI
NIM.2171002**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

**UJI ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae***

**ANTIBACTERIAL TESTING ETHYL ACETATE FRACTION
AVERRHOA BILIMBI FRUIT (*Averrhoa bilimbi* L.)
96% ETHANOL EXTRACT OF *Klebsiella pneumoniae***



**KARYA TULIS ILMIAH
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN
JENJANG DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH
ALVI DIAH HAPSARI
NIM.2171002**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL
SURAKARTA
2020**

KARYA TULIS ILMIAH

UJI ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*

Disusun Oleh :
ALVI DIAH HAPSARI
NIM. 2171002

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji
dan telah dinyatakan memenuhi syarat / sah

Pada tanggal 20 Februari 2020

Tim Penguji :

Yusianti Silviani, M.Pd (Ketua)
Ardy Prian Nirwana, M.Si (Anggota)
Aulia Nur Rahmawati, M.Si (Anggota)

Menyetujui,
Pembimbing Utama

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

Mengetahui,
**Ketua Program Studi
DHI Farmasi**

Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

**UJI ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96%
BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)
TERHADAP *Klebsiella pneumoniae***

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar dilingkungan Program Studi DIII Farmasi STIKES Nasional maupun di Perguruan Tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, 20 Februari 2020



Alvi Diah Hapsari

NIM.2171002

MOTTO

*Adigang, Adigung, Adiguna
Jaga kelakuan, jangan sombong dengan kekuatan, kedudukan
ataupun latarbelakangmu*

*MAJULAH tanpa menyingkirkan
NAIKLAH TINGGI tanpa menjatuhkan
jadilah BAIK tanpa menjelekkkan orang lain
dan BENAR tanpa menyalahkan*

*Orang lemah akan balas dendam, orang kuat akan
memafkan, orang pintar akan mengabaikan (Albert
Einstein)*

*Aku lebih menghargai orang yang beradab daripada orang
yang berilmu. Kalau hanya berilmu, iblis pun lebih tinggi
ilmunya daripada manusia (Syekh Abdul Qadir Al-Jailani)*

*Tindakan menyalahkan hanya akan membuang waktu. Sebesar
apapun kesalahan yang anda timpakan ke orang lain dan
sebesar apapun anda menyalahkannya, hal tersebut tidak
akan mengubah anda (Wayne Dyer)*

PERSEMBAHAN

**ALLAH SWT yang telah memberikan kemudahan, kerahmatan
dan hidayah-Nya atas kelancaran dalam hal apapun**

**Untuk Bapak Sri Widodo dan Ibu Sarsini yang tercinta, yang
selalu memberikan dukungan, doa dan kasih sayang penuh
tanpa henti**

**Untuk kakakku Afik serta adik-adikku tersayang dan tercinta
Fahmi, Gilang, Ravano dan Zifana**

**Untuk Tim Mikrobiologi Ega, Rian, Ulil, Ardit, Mita, Putri dan
Sukma**

**Untuk teman seperjuanganku Fetty dan Vernanda yang selalu
mendengarkan keluh kesahku dan memberikan semangat
setiap hari**

**Untuk Nindy, Tutik dan teman-teman D3 Farmasi Reguler A
angkatan tahun 2017 yang selalu ada dikala suka maupun
duka**

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas berkat, rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah dengan judul “**UJI ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae***” sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program pendidikan Ahli Madya Farmasi pada Program Studi Diploma III Farmasi Stikes Nasional Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini, penulis mendapatkan bantuan dari berbagai pihak baik secara moril maupun materil, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Allah S.W.T. atas segala kenikmatan dan kemudahan yang telah diberikan.
2. Hartono., M.Si., Apt. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk membuat Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Iwan Setiawan, S.Farm., M.Sc., Apt. Selaku ketua program studi DIII Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang telah memberikan kesempatan pada penulis untuk membuat Karya Tulis Ilmiah.

4. Aulia Nur Rahmawati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah membimbing dengan cermat dan teliti, mengarahkan serta memberi nasehat-nasehat yang sangat berguna terkait Karya Tulis Ilmiah.
5. Yusianti Silviani, M.Pd selaku ketua penguji yang telah memberikan berbagai pengarahan dan masukan yang berguna untuk Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Ardy Prian Nirwana, M.Si selaku dewan penguji yang telah memberikan berbagai pengarahan dan masukan yang berguna untuk Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Susi Rahamawati, A.Md selaku instruktur yang selalu mengarahkan, membantu menemani selama berjalannya penelitian dan mendampingi untuk pengambilan data penelitian di Laboratorium.
8. Pak Veri, Ibu Wina, Pak Bowo dan Ibu Luluk yang setia menemani dan membantu peminjaman alat praktikum hingga selesai.
9. Rekan-rekan mahasiswa, semua dosen dan asisten dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang tidak bisa disebutkan satu persatu dalam membantu terlaksananya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menerima kritik dan saran dari pembaca mengenai Karya Tulis Ilmiah ini. Harapan penulis semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu kefarmasian bagi penulis, pembaca dan semua pihak. Amin.

Wassalamu'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN	vi
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Landasan Teori	5
B. Kerangka Pikir	20
C. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Desain Penelitian	22
B. Tempat dan Waktu Penelitian	22
C. Populasi dan Sampel	22
1. Populasi	22
2. Sampel	23
D. Instrumen Penelitian	23
1. Alat	23
2. Bahan	24
E. Identifikasi Variabel Penelitian	24
1. Variabel Bebas	24
2. Variabel Terikat	25
F. Definisi Operasional Variabel Penelitian	25
1. Variabel Bebas	25
2. Variabel Terikat	25
G. Alur Penelitian	26

1. Bagan.....	26
2. Cara Kerja.....	27
H. Analisis Data Penelitian.....	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
A. Hasil Determinasi.....	40
B. Preparasi Sampel.....	40
C. Ekstraksi Sampel.....	41
D. Fraksinasi.....	44
E. Karakteristik Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	46
F. Skrining Fitokimia.....	51
G. Uji antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh.....	55
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
A. Kesimpulan.....	59
B. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah belimbing wuluh.....	9
Gambar 2. Kerangka Pikir.....	20
Gambar 3. Bagan Penelitian.....	26
Gambar 4. Ekstrak kental buah belimbing wuluh.....	44
Gambar 5. Morfologi koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada media MC.....	48
Gambar 6. Hasil pewarnaan Gram <i>Klebsiella pneumoniae</i> (perbesaran 1000x).....	48
Gambar 7. Hasil uji biokimia.....	51
Gambar 8. Hasil uji Alkaloid.....	53
Gambar 9. Hasil uji Flavonoid.....	53
Gambar 10. Hasil uji Fenolik.....	54
Gambar 11. Hasil uji Tannin.....	54

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Uji Biokimia Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	6
Tabel 2. Diameter Zona Daya Hambat Antibiotik Ciprofloxacin Terhadap <i>Enterobacteriaceae</i>	18
Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh.....	45
Tabel 4. Hasil rendemen Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh.....	46
Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh.....	52
Tabel 6. Hasil Pengukuran Daya Hambat Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh.....	56
Tabel 7. Respon penghambatan aktivitas antibakteri	57
Tabel 8. Hasil Persentase Efektivitas Daya Hambat	57
Tabel 9. Hasil uji biokimia bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Preparasi dan Ekstraksi Sampel.....	65
Lampiran 2. Fraksinasi	67
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen	67
Lampiran 4. Karakterisasi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	68
Lampiran 5. Uji Skrining Fitokimia	70
Lampiran 6. Uji Daya Hambat Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	70
Lampiran 7. Pembuatan Seri Konsentrasi.....	71
Lampiran 8. Determinasi Tanaman	73

INTISARI

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) merupakan salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) memiliki kandungan kimia alami diketahui mempunyai efek antibakteri yaitu alkaloid, flavonoid, dan tannin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dan untuk mengetahui konsentrasi yang menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. Metode yang digunakan adalah metode *disc diffusion* (Kirby & Bauer) dengan seri konsentrasi 50%, 75% dan 100%. Hasil zona hambat yang diperoleh dianalisis secara deskriptif eksperimental. Hasil zona hambat yang ditunjukkan dari masing-masing ekstrak pada konsentrasi 50%, 75% dan 100% dari fraksi etil asetat buah belimbing wuluh adalah 19,1 mm, 21,53 mm dan 22,23 mm. Fraksi etil asetat buah belimbing wuluh mampu menghambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan konsentrasi 100% dapat menghasilkan diameter zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan menghasilkan zona hambat sebesar 22,3 mm.

Kata kunci : Uji Antibakteri, Buah Belimbing Wuluh, Fraksi Etil Asetat, *Klebsiella pneumoniae*

ABSTRACT

Averrhoa bilimbi fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) is one of the plants that have been used as traditional medicine. Averrhoa bilimbi fruit (*Averrhoa bilimbi* L.) has antibacterial effects namely alkaloids, flavonoids and tannins. This study aims to determine the ability of the ethyl acetate fraction Averrhoa bilimbi fruit 96% ethanol extract to inhibit *Klebsiella pneumoniae* growth and to determine the concentration that produces the biggest inhibitory zone on *Klebsiella pneumoniae* growth. The method used is disc diffusion (*Kirby & Bauer*) with a 50%, 75% and 100% concentration series. The inhibition zone results obtained were analyzed descriptively experimental. Inhibitory zone results shown from each extract at a concentration of 50%, 75% and 100% of the ethyl acetate fraction Averrhoa bilimbi fruit 96% ethanol extract were 19.10 mm, 21.53 mm and 22.23 mm. The ethyl acetate fraction Averrhoa bilimbi fruit 96% ethanol extract is able to inhibit *Klebsiella pneumoniae* bacteria and 100% concentration can produce the largest inhibitory zone diameter against the growth of *Klebsiella pneumoniae* bacteria by producing inhibition zone diameter of 22.23 mm.

Keywords : Antibacterial Testing, Averrhoa bilimbi fruit, ethyl acetate fraction, *Klebsiella pneumoniae*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri jenis gram negatif (-), berbentuk batang pendek, berukuran 0,5-0,5 x 1,2 µm, memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora. *Klebsiella pneumoniae* tidak memiliki flagel sehingga tidak dapat bergerak tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk suatu asam dan gas. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri fakultatif anaerob yaitu bakteri yang membutuhkan oksigen. *Klebsiella pneumoniae* ditunjukkan dengan pertumbuhan mucoid, kapsul polisakarida yang berukuran besar dan tidak motil (Tarina dkk., 2017).

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri salah satu penyebab pneumonia. Berdasarkan Survei Demografi Kesehatan Indonesia, prevalensi Pneumonia Balita di Indonesia mengalami peningkatan dari 7,6% pada tahun 2002 menjadi 11,2% pada tahun 2007. Proporsi kematian balita akibat pneumonia lebih dari 20% (di Indonesia 30%) angka kematian pneumonia balita di atas 4 per 1000 kelahiran hidup (di Indonesia diperkirakan masih diatas 4 per 1000 kelahiran hidup) (Caesar dkk., 2015)

Pada tahun 2002, agen penyebab ISK yang mencakup >95% yang diuji di laboratorium klinik Mikrobiologi Universitas Indonesia ialah *Escherichia coli*

(19%) dan yang kedua ialah *Klebsiella pneumoniae* (13%) (Sumolang dkk., 2013).

Pada bulan Januari 1997-Agustus 2004 di Departemen IKA FKUI/RSCM tercatat sebanyak 7 kasus abses hati yang semuanya kasus rawat inap. Mortalitas abses hati masih tinggi yaitu berkisar antara 10-40%, 5-7 Insiden abses hati jarang, berkisar antara 15-20 kasus per 100.000 populasi. Tiga per empat kasus abses hati di negara maju adalah abses hati piogenik, sedangkan di negara yang sedang berkembang lebih banyak ditemukan abses hati amuba (Prianti dkk., 2005).

Berdasarkan Weinstein et al. (2019), beberapa bakteri jenis *Enterobacteriaceae* termasuk *Klebsiella pneumoniae* dapat diobati dengan obat antibiotik. Antibiotik yang dimaksud diantaranya adalah Meropenem, Imipenem, Ciprofloxacin, Chloramphenicol dan Tetracycline. *Klebsiella pneumoniae* memiliki sensitivitas dengan diameter zona daya hambat ≥ 23 mm terhadap Meropenem, ≥ 23 mm terhadap Imipenem, ≥ 26 mm terhadap Ciprofloxacin, ≥ 18 mm terhadap Chloramphenicol, dan ≥ 15 mm terhadap Tetracycline. Saat ini, *Klebsiella pneumoniae* telah resisten terhadap beberapa obat antibiotik (Tarina dkk., 2017). Resistensi bakteri terhadap antibiotik menyebabkan penggunaan antibiotik harus ditekan dan diganti dengan alternatif pengobatan lain berupa bahan alam (Ningsih dkk., 2013).

Bahan alam yang terdapat di Indonesia sangat banyak, salah satunya yaitu buah belimbing wuluh. Khasiat yang diberikan belimbing wuluh antara lain sebagai antidiabetes, antioksidan, antitrombolitik, antijamur dan

antibakteri. Bagian dari pohon yang umum digunakan adalah daun, bunga, kulit batang dan buah. Kandungan asam sitrat dan flavonoid pada buah belimbing wuluh yang dibuat ekstrak etanol belimbing wuluh dapat bermanfaat sebagai antimikroba. Selain itu, ekstrak metanol buah belimbing wuluh memiliki potensi melawan bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea*, *Salmonella thypi*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella boydii* dan *Vibrio parahaemolysis* (Sukandar dkk., 2015).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui uji antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

B. RUMUSAN MASALAH

1. Apakah fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mampu menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* ?
2. Berapakah konsentrasi fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang menghasilkan zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ?

C. TUJUAN PENELITIAN

1. Untuk mengetahui kemampuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.

2. Untuk mengetahui konsentrasi fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.

D. MANFAAT PENELITIAN

1. Aspek Teoritis

Penelitian uji antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* diharapkan dapat digunakan untuk meningkatkan ilmu pengetahuan tentang khasiat dari buah belimbing wuluh.

2. Aspek Praktis

Penelitian uji antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* diharapkan dapat menjadi alternatif pengobatan sebagai pengganti antibiotik.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Karya Tulis Ilmiah ini merupakan penelitian deskriptif eksperimental, yang dilakukan untuk mengetahui zona daya hambat fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae* menggunakan variasi konsentrasi tertentu.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteri 2 bagian Mikrobiologi & Parasitologi dan Laboratorium Obat Tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, pada bulan November 2019 – Januari 2020.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian yang dilakukan. Dalam penelitian ini, populasi yang digunakan adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diperoleh di Kecamatan Laweyan Kota Surakarta.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang diambil dari keseluruhan objek yang akan diteliti dan diharapkan mampu mewakili populasi. Sampel yang digunakan adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang di dapatkan di Kecamatan Laweyan Kota Surakarta, diambil secara *Random Probability Sampling* yaitu teknik pengambilan sampel secara acak.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, pisau steril, baskom, loyang, bejana, batang pengaduk, *beaker glass* 500 ml (*pyrex*), kain flanel, kertas saring, corong kaca, *rotary evaporator*, *waterbath* listrik (*memmert*), cawan porselen, *vial*, *oven* (*memmert*), penjepit, kertas perkamen, gelas ukur 100 ml steril (*pyrex*), penangas air, tabung reaksi besar steril (*pyrex*), *autoclave*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, cawan petri steril (*herma*), gelas ukur 50 ml steril (*pyrex*), erlenmeyer steril (*pyrex*), ohse bulat steril, *inkubator* (*memmert*), tabung reaksi kecil steril (*pyrex*), plat tetes, kapas lidi steril, cakram kertas saring 6 mm, penggaris, gunting, pinset steril, spidol, rak pengecatan, bunsen, korek api, mikroskop *object glass*, *deck glass*, kapas, rak tabung, ohse lurus steril, tabung durham, pipet tetes steril, jangka sorong, *vortex*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), etanol 96%, bakteri *Klebsiella pneumoniae*, sabun cuci antiseptik, spiritus, aquadest, *Brain Heart Infusion (BHI)*, alkohol mikroskop, kristal violet, iodine, alkohol, safranin, minyak emersi, agar *Mac Conkey (MC)*, media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, *SIM*, *Methyl Red (MR)*, *Methyl Red 1%*, *erlich/kovac*, *Barried*, KOH, BTB, *Voges Proskauer (VP)*, KOH 40%, Citrat, *Urea*, *Phenyl Alanin Deaminase (PAD)*, HCl 1%, *Phenol Red*, FeCl₃ 10%, fermentasi karbohidrat (glukosa, manitol, maltosa, laktosa dan sukrosa), agar, nutrien agar, H₂SO₄ 1%, BaCl₂ 1%, NaCl 0,9%, H₂SO₄ 2N, reagen Wagner, HCl pekat, bubuk Mg, FeCl₃ 5%, FeCl₃ 1%, larutan gelatin, disk Ciprofloxacin dan DMSO.

E. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi dari fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

2. Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah diameter zona daya hambat fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

F. Definisi Operasional Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

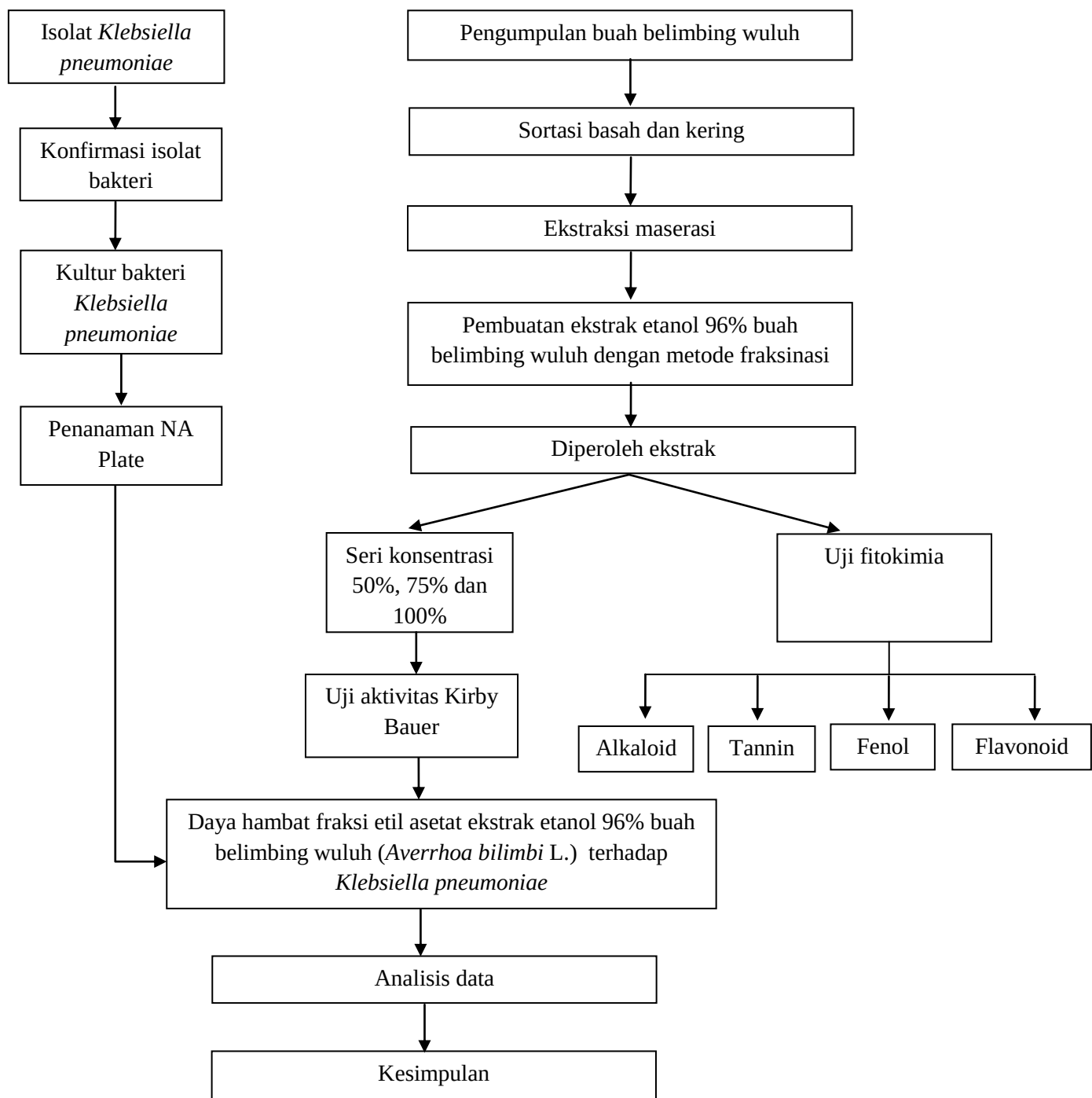
Variasi konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 50%, 75% dan 100% dari fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan kriteria yang digunakan adalah buah yang segar, tidak busuk, dan berwarna hijau (panjang ± 5 cm). Buah belimbing wuluh diperoleh dari Kecamatan Laweyan Kota Surakarta.

2. Variabel Terikat

Penelitian ini ditentukan oleh zona daya hambat yang terbentuk dalam satuan mm (milimeter) fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

G. Alur Penelitian

1. Bagan Penelitian



Gambar 3. Bagan Penelitian

2. Cara kerja

a. Preparasi sampel dan ekstraksi

Belimbing wuluh sebanyak 3 kg diekstraksi dengan metode maserasi. Belimbing wuluh dicuci bersih dengan air mengalir dan diangin-anginkan sampai kering, diiris tipis dan direndam etanol 96% dengan perbandingan 1:2 selama 3 x 24 jam di dalam wadah tertutup. Kemudian larutan ekstrak buah belimbing wuluh disaring. Filtrat ekstrak buah belimbing wuluh yang didapatkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 70°C dengan kecepatan 100 rpm. Hasil filtrat yang telah dipekatkan inilah yang akan digunakan (Hamdanah dkk., 2015)

b. Fraksinasi

1) Partisi dengan n-heksana

Ekstrak etanol yang telah dipekatkan ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian dilarutkan dalam 1000 mL aquadest. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL lalu ditambahkan 1000 mL n-heksana. Larutan dalam corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan beberapa saat hingga membentuk dua fasa. Setelah terbentuk larutan dua fasa yang stabil, fasa atas (n-heksana) dipisahkan dari fasa bawah (air). Pelarut n-heksana ditambahkan hingga berwarna bening. Fasa n heksana yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, sedangkan fasa air digunakan untuk partisi dengan pelarut etil asetat (Gaffar dkk., 2018).

2) Partisi dengan etil asetat

Fraksi air yang dihasilkan pada pemisahan dengan n-heksana dilakukan partisi kembali dengan menggunakan etil asetat. Fraksi air yang dihasilkan diukur volumenya kemudian ditambahkan etil asetat dengan perbandingan volume 1:1 ke dalam corong pisah. Larutan dalam corong pisah dikocok lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua fasa. Setelah terbentuk dua fasa, fasa atas (etil asetat) dipisahkan dari fasa bawah (air). Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* (Gaffar dkk., 2018) pada suhu 50-60°C, kemudian dikentalkan di atas *waterbath* pada suhu 60°C untuk uji antibakteri (Muhtadi dkk., 2013).

c. Sterilisasi alat

Alat-alat seperti pisau, tabung Erlenmeyer dan tabung reaksi dicuci dengan sabun cuci yang mengandung bahan antiseptik kemudian dikeringkan dan dimasukkan ke dalam *oven* pada suhu 170°C selama 1 jam. Alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan di dalam *oven* pada suhu 170°C selama 1 jam (Laia dkk., 2019).

d. Stok bakteri

Bakteri induk didapat dari Laboratorium Bakteri 2 bagian Mikrobiologi & Parasitologi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.

e. Pembuatan media

1) Pembuatan Media BHI

Bahan pembuatan suspensi bakteri yang digunakan adalah *Brain Heart Infusion (BHI)* sebanyak 6,3 g yang dilarutkan dalam 150 ml aquadest di atas penangas. Kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Diambil satu ohse kemudian digoreskan pada media BHI, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media ini digunakan untuk memperoleh konsentrasi bakteri yang sesuai untuk pengujian di laboratorium (Singkoh, 2011).

2) Pengecatan

Preparat koloni bakteri ditetesi dengan kristal violet (Gram A), dibiarkan selama 60 detik dan dibilas dengan air mengalir, kemudian ditiriskan. Kemudian ditetesi dengan iodine (Gram B), dibiarkan 60 detik dan dibilas dengan air mengalir, lalu ditiriskan. Preparat ditetesi larutan alkohol (Gram C) dibiarkan selama 15-30 detik dibilas dengan air mengalir, kemudian ditiriskan. Selanjutnya ditetesi safranin (Gram D) selama 60 detik kemudian dibilas dan dikeringkan, preparat dilihat di bawah lensa mikroskop dengan perbesaran 1000x dengan penambahan minyak imersi (Muhtadi dkk., 2012).

3) Pembuatan media *Mac Conkey*

Media *Mac Conkey Agar (MCA)* ditimbang sebanyak 10 gram dan dicampur dengan aquadest sebanyak 200 ml dalam tabung Erlenmeyer kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave*

pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuang ke dalam cawan petri sebanyak kira-kira 25 ml, tutup cawan petri, dan biarkan mengeras. Setelah mengeras, stok bakteri *Klebsiella pneumoniae* diambil menggunakan ohse dan digoreskan di atas media *Mac Conkey Agar* (MCA), kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Makalew dkk., 2016).

4) Uji Biokimia

Koloni bakteri Gram negatif yang telah diisolasi dari agar *Mac Conkey* di tanam di media :

a) *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian digoreskan secara zig zag pada kemiringan media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati adanya pembentukan :

- Acid/asam (+) : Warna dasar media TSIA adalah kuning. Hal ini disebabkan media TSIA mengandung karbohidrat yang akan difermentasikan oleh bakteri membentuk suasana asam.
- Alkali/basa (+) : Warna media TSIA tetap merah. Hal ini disebabkan karena karbohidrat pada media tidak terurai. Pembacaan adanya pembentukan asam dan basa dengan cara mengamati bagian yang miring terlebih dahulu, kemudian bagian yang tegak.

- H_2S (+) : ditandai dengan terdapatnya endapan hitam di dasar media. Proses desimilasi asam amino yang mengandung belerang (cystine & methionin) oleh bakteri akan melepaskan H_2S . Untuk mengetahui adanya/terbentuknya H_2S tersebut, pada medium ditambahkan garam-garam logam berat (Pb, Fe, Ni, Co, dsb). Adanya warna : hitam pada medium menunjukkan adanya H_2S .
- Gas (+) : ditandai dengan terangkatnya media sehingga terdapat bagian yang kosong pada media (Wahyudi dan Silviani, 2015).

b) *SIM*

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar media. Diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Amati adanya pembentukan :

- H_2S (+): ditandai dengan adanya warna hitam pada media.
- Motil (+): bakteri menunjukkan pertumbuhan menyebar di sekitar tempat penusukan.
- Indol (+): Ditandai dengan terbentuknya cincin warna merah pada garis pemisah setelah penambahan 5 tetes reagen Erlich/Kovac. Indol merupakan zat berbau busuk yang dihasilkan dari pemecahan asam amino triptophan

yang terkandung dalam media oleh bakteri (Wahyudi dan Silviani, 2015).

c) *Methyl Red (MR)*

Koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi merah setelah setelah ditambahkan *methyl red* 1%, sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna media setelah penambahan *methyl red* 1% (Wahyudi dan Silviani, 2015).

d) *Voges Proskauer (VP)*

Koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, pada media ditambahkan 10 tetes reagen Barried dan 4 tetes reagen KOH 40% dan ditunggu selama 10 menit. Jika setelah ditambahkan reagen Barried dan KOH 40% terjadi perubahan warna media menjadi merah, berarti glukosa pada media akan diubah menjadi asam pyruvat yang diuraikan lagi menjadi acetoin. Acetoin akan bereaksi dengan inti guanidin dari reagen Barried membentuk warna merah (Wahyudi dan Silviani, 2015).

e) Citrat

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar, kemudian goreskan secara zig zag pada kemiringan media.

Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif akan ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Hal ini disebabkan karena bakteri yang ditanam menggunakan garam citrat sebagai sumber karbon, maka citrat akan diurai dan menghasilkan ion OH. Ion ini bersifat basa, sehingga dengan adanya indikator BTB media akan berubah menjadi berwarna biru (Wahyudi dan Silviani, 2015).

f) Urea

Tusuk media menggunakan ohse lurus sampai dasar media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari warna kuning menjadi merah muda. Hal ini terjadi karena bakteri memfermentasikan kristal urea dalam media menjadi amoniak yang membuat suasana media menjadi basa. Adanya indikator Phenol Red dalam media menyebabkan media menjadi berwarna merah. Reaksi : $\text{CO}(\text{NH}_2)_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{urease}} 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$
 $\text{NH}_3 + \text{Phenol Red} \longrightarrow \text{merah}$ (Wahyudi dan Silviani, 2015).

g) *Phenyl Alanin Deaminase (PAD)*

Koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media. Diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan warna hijau pada media saat ditambahkan HCl 0,1 N untuk mendapatkan pH asam (kuning). Kemudian tambahkan 5 tetes

FeCl_3 10%. Phenyl Alanin pada media akan dideaminasi oleh bakteri menjadi Phenyl piruvat yang akan bereaksi dengan FeCl_3 membentuk warna hijau (Wahyudi dan Silviani, 2015).

h) Gula- gula (glukosa, manitol, maltosa, laktosa dan sukrosa)

Koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya warna kuning pada media dan apabila dalam tabung durham terdapat gelembung, berarti fermentasi tersebut menghasilkan gas (CO_2) positif. Karbohidrat/gula yang terdapat dalam media akan difermentasikan oleh bakteri menjadi asam dan gas. Adanya indikator Phenol Red akan menyebabkan media menjadi kuning (Wahyudi dan Silviani, 2015).

5) Pembuatan NA Miring

Bahan yang digunakan dalam pembuatan NA miring ini yaitu agar 2 g dan nutrisi agar 3,2 g dilarutkan dalam 120 ml aquadest di atas penangas kemudian media dituang ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media diangkat dan dimiringkan dengan posisi 15° dan dibiarkan mengeras. Media ini berfungsi sebagai tempat untuk peremajaan bakteri. Diambil satu ose dari TSIA, kemudian tusuk dan goreskan secara zig zag pada media NA miring kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Singkoh, 2011).

6) Pembuatan Standar Kekeruhan (*Turbidity Standart/Mac Farland*)

Sebanyak 9,95 ml H_2SO_4 1% dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 0,05 ml BaCl_2 1%. Kemudian diaduk sampai homogen. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standart, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Ningsih dkk., 2013).

7) Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji pada media NA miring diambil dengan kawat ohse steril lalu disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland (Ngajow dkk., 2013).

8) Metode *Kirby & Bauer*

Metode pengujian efek antimikroba yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode *Kirby & Bauer* (difusi cakram). Pengujian ini digunakan media NA Plate yang pembuatannya yaitu NA ditimbang sebanyak 20 gram dan dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1 liter. Larutan tersebut kemudian dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga homogen. Media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C . Kemudian media dituang ke dalam cawan petri masing-masing ± 10 ml. Media dibiarkan memadat. Sebanyak 1 cawan petri, yang didalamnya berisi 3 seri konsentrasi yaitu 50%, 75% dan 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah disk Ciprofloxacin serta untuk kontrol negatif yang

digunakan adalah DMSO. Replikasi yang dilakukan sebanyak 3 kali. Masing-masing cawan petri diberi kode menggunakan spidol pada bagian belakang yaitu dengan membagi daerah/zona agar sama rata.

9) Skrining fitokimia

1) Uji alkaloid

Masukkan ekstrak etanol buah belimbing wuluh masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam 2 buah tabung reaksi. Setelah itu, masing-masing tabung ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2N dan dikocok kuat. Pada tabung pertama ditambahkan reagen Wagner. Sampel kemudian diamati. Hasil positif ditandai dengan adanya endapan kecoklatan pada tabung (perubahan reagen Wagner) (Munte dkk., 2015).

2) Uji Flavonoid

Sebanyak 2 g ekstrak dilarutkan dengan 5 ml etanol, dipanaskan selama lima menit di dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambah beberapa tetes HCl pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah tua dalam waktu 3 menit (Ngajow dkk., 2013).

3) Uji Fenolik

Ekstrak dipipet lalu diteteskan ke dalam plat tetes sebanyak 3 tetes kemudian ditambahkan 2 tetes larutan (FeCl_3) 5%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau, hitam kebiruan atau hitam kuat (Prestianti dkk., 2018).

4) Uji Tanin

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan larutan FeCl_3 1 %, jika ekstrak mengandung tanin akan terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua. Ekstrak ditambahkan dengan larutan gelatin, jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung tanin (Sari dkk., 2015).

10) Pembuatan seri konsentrasi

Stok konsentrasi ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang akan divariasikan mulai dari konsentrasi 50%, 75% dan 100% dengan menggunakan pelarut DMSO yang juga sebagai kontrol negatif, serta kontrol positif menggunakan disk Ciprofloxacin dengan diameter 6 mm. Untuk pembuatan larutan uji :

1) Konsentrasi 100%

Timbang 10 gram ekstrak kental buah belimbing wuluh kemudian larutkan dengan DMSO hingga 10 ml.

2) Konsentrasi 75%

Timbang 3,75 gram kemudian dilarutkan dengan DMSO hingga 5 ml.

3) Konsentrasi 50%

Timbang 2,5 gram dari kemudian dilarutkan dengan DMSO hingga 5 ml.

- 4) Kontrol negatif menggunakan DMSO
- 5) Kontrol positif menggunakan disk Ciprofloxacin

H. Analisis Data

Pengumpulan data yang dilakukan secara deskriptif yaitu dengan menganalisa daya hambat uji antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Pengumpulan data dilakukan dengan membuat varian konsentrasi dari fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% buah belimbing wuluh (50%, 75% dan 100%). Masing-masing konsentrasi diuji daya hambat terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Fraksi etil asetat ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 50% sebesar 19,10 mm, konsentrasi 75% sebesar 21,53 mm dan konsentrasi 100% sebesar 22,23 mm.
2. Fraksi etil asetat ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada konsentrasi 100% dapat menghasilkan diameter zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

B. Saran

Bagi penelitian selanjutnya :

1. Sebaiknya digunakan kultur bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang berusia 24 jam.
2. Banyaknya ekstrak yang dimasukkan ke dalam *blanc disk* sebaiknya terukur dengan menggunakan bantuan mikropipet.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.H., 2017, Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kapang Endofit dari Akar Tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negri (UIN) Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Addina, G., 2014, Evaluasi Kadar Bakteri di Udara dengan Menggunakan Media *Plate Count Agar* (PCA) Berdasarkan Tinggi Secara Vertikal di Departemen Bedah Mulut RSGMP FKG USU dengan Metode *Total Plate Count* (TPC), *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Andayani, R., Chismirina, S., dan Kumalasari, I., 2014, Pengaruh ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap interaksi *Streptococcus sanguinis* dan *Streptococcus mutans* secara *in vitro*, *Cakradonya Dent J*, 6(2): 678-744.
- Asna, A.N. and Noriham, A., 2014, Antioxidant Activity and Bioactive Component of Oxalidaceae Fruit Extract, *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*, Vol.18 No. 1 (2014): 116-126.
- Azmi, N., 2013, Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Serta Fraksi-Fraksi Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Aziz, 2019, Analisis *In Vitro* Aktivitas Antibakteri Daun Sisik Naga (*Drymoglossum pilosellaoides*) Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*, *Journal of Aquaculture and Fish Health* Vol. 8 No.2 (2019).
- Caesar D.L., Nurjazuli, dan Endah, N., 2015, Hubungan Jumlah Bakteri Patogen dalam Rumah dengan Kejadian Pneumonia pada Balita di Wilayah Kerja Puskesmas Ngesrep Banyumanik Semarang Tahun 2014, *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia* Vol.14 No.1/April 2015.
- Chandra, R.A., Yunita, R., Wahyuni, D.D., dan Anggraini, D.R., 2017, Daya Antibakteri Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Terhadap *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*, *Essence of Scientific Medical Journal*.
- Ederer, G.M., Chu, J.H., and Blazevic, D.J., 1971, Rapid Test for Urease and Phenylalanine Deaminase Production, *Applied Microbiology*, Vol. 21, No. 3.
- Gaffar, S., Apriani, R., dan Herlina, T., 2018, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-heksana Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 14(2) 2018, 303-313.
- Halawiyah, A., 2015, Evaluasi Kualitas Penggunaan Antibiotik Meropenem Pada Pasien Sepsis BPJS di Rumkital Dr. Mintohardjo Tahun 2014, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negri (UIN) Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Hamdanah, S., Anam, S., dan Jamaluddin, 2015, Isolasi dan identifikasi senyawa Flavonoid dari ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

- dengan metode spektrofotometri Uv-Vis, *Galenika Journal of Pharmacy* Vol. 1 (1) : 22 - 34 ISSN : 2442-8744.
- Herli, M.A., dan Wardaniati, I., 2019, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Ketapang yang Tumbuh di Sekitar Univ. Abdurrah, Pekanbaru, *Journal Of Pharmacy & Science* Volume 2 No.2-June 2019.
- Jun, J.B., 2018, *Klebsiella pneumoniae* Liver Abscess, <https://doi.org/10.3947/ic.2018.50.3.210> pISSN 2093-2340-eISSN 2092-6448.
- Laia, H.C.G., Yusliana, Daeli, P.J., Sarwendah, dan Chiuman, L., 2019, Uji Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, Vol.15, No.2, Juli 2019.
- Lathifah, Q.A., 2008, Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, Malang.
- Makalew, M.A.J., Nangoy, E., dan Wowor, P.M., 2016, Uji efek antibakteri air perasan daging buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 4, Nomor 1.
- Maryam, St., Juniasti, S., dan Kosman, R., 2015, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Asal Kota Watampone, *As-Syifaa* Vol 07 (01) : Hal. 60-69, Juli 2015 ISSN : 2085-4714.
- Muhtadi, Ambarwati, R., dan Yuliani, R., 2012, Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi kulit batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Staphylococcus epidermidis* beserta bioautografinya, *Biomedika*, Volume 4 Nomor 2.
- Munte, L., Runtuwene, M.R., dan Citraningtyas, G., 2015, Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.), *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 4 No. 3 Agustus 2015 ISSN 2302 – 2493.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., dan Kamu, V.S., 2013, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*, *Jurnal MIPA UNSRAT Online* 2 (2) 128-132.
- Ningsih, A.P., Nurmiati, dan Agustien, A., 2013, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.)* 2(3) – September 2013: 207-213 : (ISSN : 2303-2162).
- Nugrahani, R., Andayani, Y., dan Hakim, A., 2016, Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk, *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA* Vol. 2, No. 1 Januari 2016 e-ISSN : 2407-795X p-ISSN : 2460-2582.
- Parawira, H.B., Rahma, dan Nasir, M., 2019, Abses hati pada infeksi hepatitis B, Vol.1, No.2, Juni 2019, *Jurnal Medical Profession (MedPro)*.
- Prasetya, Y.A., Winarsih, I.Y., Pratiwi, K.A., Hartono M.C., dan Rochimah D.N., 2019, Deteksi Fenotipik *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum Beta*

- Lactamases* (ESBLs) Pada Sampel Makanan di Krian Sidoarjo, *Life Science* 8 (1), e-ISSN 2528-5009.
- Pratiwi, D.S., 2013, Kajian Uji Resistensi dan Sensibiitas Antibiotik Ceftriaxone dan Ciprofloxacin Pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di RSUP Fatmawati, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negri (UIN) Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Prayoga, E., 2013, Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Prestianti, I., Baharuddin, M., dan Sappewali, S., 2018, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah Hutan (*Apis dorsata*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*, *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 14(2) 2018, 314-322.
- Prianti, Y., Bisanto, J., dan Firman, K., 2005, Abses Hati Pada Anak, *Sari Pediatri*, Vol.7, No.1, Juni 2005: 50-56.
- Pujiyanta, A., dan Pujiantoro, A., 2012, Sistem pakar penentuan jenis penyakit hati dengan metode *Inferensi Fuzzy Tsukamoto*, *Jurnal Informatika* Vol 6, No. 1, Januari 2012.
- Putri, D.N., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth,) Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*, *Skripsi*, Fakultas Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Rifkowsaty, E.E., dan Wardanu, A.P., 2016, Pengaruh Ekstraksi Cara Basah dan Cara Kering Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cengkokodok (*Melastoma malabathricum* L.), *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 5 (1) 2016.
- Rijayanti, R.P., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, Naskah Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Samosir, M.F., Suryanto, D., dan Desrita, 2016, Isolasi dan identifikasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan mas, Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Sangi, M.S., Momuat, L.I., dan Kumaunang, M., 2012, Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*), *128 Jurnal Ilmiah Sains* Vol. 12 No. 2.
- Sarah, C.A., 2017, Aktivitas Antibakteri Kombinasi Daun *Moringa oleifera* dan Kulit Batang *Jatropha curcas*, *Skripsi*, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Septiani, N.W., 2017, Uji Kemampuan Larutan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Dalam Menurunkan Jumlah Kuman Pada Peralatan Makan Di Cafeteria Perpustakaan UIN Alauddin Makassar, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negri (UIN) Alauddin, Makassar.

- Singkoh, M.F.O., 2011, Aktivitas antibakteri ekstrak alga laut *Caulerpa racemosa* dari perairan Pulau Nain, *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis* Vol. VII-3, Desember 2011.
- Sukandar, E.Y., Fidrianny, I., dan Triani, R., 2014, Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, MRSA dan MRCNS, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. XXXIX, No. 3 & 4, 2014 – 51.
- Sulviana, A.W., Puspawati, N., dan Rukmana, R.M., 2017, Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Operasi di RSUD Dr. Moewardi, *Biomedika* Volume 10, No. 02.
- Sumolang, S.A.Ch., Porotu'o, J., dan Soelingan, S., 2013, Pola Bakteri Pada Saluran Kemih di BLU RSUP Prof. dr. R. D. Kandou Manado, *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, Volume 1, Nomor 1, Maret 2013, hlm 597-601.
- Syamsinar, 2015, Pola Resistensi Antibiotik dan Profil Plasmid Bakteri *Klebsiella* sp. yang Berpotensi Sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial di RSUD Abdul Moeloek Provinsi Lampung, *Tesis*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Tarina, N.T.I., dan Kusuma, S.A.F., 2017, Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumonia*, *Farmaka Suplemen* Volume 15 Nomor 2.
- Tauran, P.M., Handayani, I., dan Sennang, N., 2013, *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, Vol.19, No.2, Maret 2013 ISSN 0854-4263.
- Ulfa, A., Suarsini, E., dan Muhdhar, M.H.I.A., 2016, Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan, *Proceeding Biology Education Conference* (ISSN: 2528-5742), Vol 13(1) 2016: 793-799.
- Wahyudi, D., dan Silviani, Y., 2015, Penghambatan Produksi Eksoprotease dan Biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa* Oleh Ekstrak *Apium graveolens* L., *Jurnal KesMaDaSka*-Juli 2015.
- Wahyuni, L.S., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kubis (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Weinstein, M.P., Patel, J.B., Bobenchik, A.M., Campeau, S., Cullen, S.K., Gallas, M.F., Gold, H., Humphries, R.M., Kim, T.J., Lewis, J.S., Limbago, B., Mathers, A.J., Mazzulli, T., Richter, S.S., Satlin, M., Schuetz, A.N., Swenson, J.M., and Tamma, .P.D., 2019, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, *Clinical and Laboratory Standards Institute 29th Edition*.
- Widyastutik, V.S., Wurlina, dan Budiarto, 2013, Kepekaan *Escherichia coli* dari Susu Kambing Peranakan Etawa Terhadap Antibiotika, *Veterinaria Medika* Vol.6, No.2, Juli 2013.
- Wulan, A.I.A., 2017, Aktivitas Partisi Etil Asetat Ekstrak Daun Kersen *Muntingia calabura* L. Dapat Meurunkan Kadar Gula Darah dengan Induksi

Streptozotosin, *Karya Tulis Ilmiah*, Akademi Farmasi Putra Indonesia, Malang.

Yuliantari, N.W.A., Widarta, I.W.R., dan Permana, I.D.G.M., 2017, Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Menggunakan Ultrasonik, *Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology)* Vol.4, No.1, 35-42, Maret 2017.