

Uji Aktivitas Antibakteri Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus* Sebagai Alternatif *Feed additive* pada Unggas (Antibacterial Activity of Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Fruit Against *Salmonella pullorum* and *Bacillus cereus* as an Alternative *Feed additive* in Poultry)

Syukrah Nur Khaeriyah^{1*}, Zamsan Maharani¹, Sri Purwanti²

¹Program Studi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 10 Tamalanrea, Makassar, Sulawesi Selatan 90245, Indonesia.

²Program Studi Peternakan, Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM. 10 Tamalanrea, Makassar, Sulawesi Selatan 90245, Indonesia.

*Corresponding author: syukrahnurkhaeriyah5@gmail.com

Abstrak. Permintaan terhadap produk unggas yang aman dan bebas residu antibiotik mendorong pencarian alternatif alami sebagai pengganti antibiotik sintetis. Salah satu bahan potensial adalah sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid dengan kemampuan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Salmonella pullorum* (Gram negatif) dan bakteri *Bacillus cereus* (Gram positif) sebagai bahan alami *feed additive* (imbuhan pakan). Sebelum uji aktivitas antibakteri, dilakukan uji flavonoid dan uji pH pada buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan, yang menunjukkan bahwa tingkat kematangan sedang memiliki kadar flavonoid tertinggi sebesar 21,244 mg/kg dengan pH 1,5, sehingga dipilih sebagai bahan uji antibakteri. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tujuh perlakuan, yaitu kontrol positif (Chemical antibacterial Behn Meyer), kontrol negatif (aquades), dan lima konsentrasi sari buah belimbing wuluh (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%), masing-masing tiga ulangan. Parameter yang diamati adalah diameter daya hambat pada media Mueller Hinton Agar (MHA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sari buah belimbing wuluh juga meningkatkan daya hambat pada bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*. Daya hambat terhadap bakteri *Salmonella pullorum* mulai terlihat pada konsentrasi 40% yaitu $12,90 \pm 3,56$ mm dan mencapai $21,89 \pm 5,23$ mm pada konsentrasi 100%, sedangkan terhadap bakteri *Bacillus cereus* pada konsentrasi 20% yaitu $12,65 \pm 2,78$ mm dan meningkat hingga $22,15 \pm 1,45$ mm pada konsentrasi 100%. Kesimpulan, sari buah belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antibakteri kategori kuat hingga sangat kuat dan mampu meningkatkan daya hambat pada bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus* ($P < 0,05$), sehingga berpotensi sebagai *feed additive* alami yang mendukung kesehatan saluran pencernaan unggas.

Kata kunci: Belimbing wuluh, antibakteri, *feed additive*, *Salmonella pullorum*, *Bacillus cereus*

Abstract. The demand for poultry products that are safe and free from antibiotic residues has encouraged the search for natural alternatives to synthetic antibiotics. One potential material is bilimbi fruit juice (*Averrhoa bilimbi* L.), which contains bioactive compounds such as flavonoids with antibacterial properties. This study aimed to evaluate the antibacterial activity of bilimbi fruit juice against *Salmonella pullorum* (Gram-negative) and *Bacillus cereus* (Gram-positive) as a natural *feed additive*. Prior to the antibacterial activity test, flavonoid content and pH were analyzed in bilimbi fruit at different maturity levels, showing that fruit at the medium maturity stage had the highest flavonoid content of 21,244 mg/kg with a pH of 1,5, and was therefore selected for antibacterial testing. The study was conducted experimentally using a Completely Randomized Design (CRD) with seven treatments, consisting of a positive control (chemical antibacterial Behn Meyer), a negative control (distilled water), and five concentrations of bilimbi fruit juice (20%, 40%, 60%, 80%, and 100%), each with three replications. The observed parameter was the inhibition zone diameter on Mueller Hinton Agar (MHA). The results showed

that increasing concentrations of bilimbi fruit juice increased the inhibition zones against *Salmonella pullorum* and *Bacillus cereus*. Inhibition against *Salmonella pullorum* was first observed at the 40% concentration ($12,90 \pm 3,56$ mm) and reached $21,89 \pm 5,23$ mm at 100%, while inhibition against *Bacillus cereus* was observed at 20% ($12,65 \pm 2,78$ mm) and increased to $22,15 \pm 1,45$ mm at 100%. In conclusion, bilimbi fruit juice exhibited strong to very strong antibacterial activity and significantly increased inhibition against *Salmonella pullorum* and *Bacillus cereus* ($P < 0,05$), indicating its potential as a natural *feed additive* to support poultry gastrointestinal health.

Keywords: *Averrhoa bilimbi*, antibacterial, *feed additive*, *Salmonella pullorum*, *Bacillus cereus*

1. Pendahuluan

Permintaan terhadap produk ternak ayam berkualitas dan aman semakin meningkat seiring dengan kesadaran masyarakat akan pentingnya keamanan pangan. Salah satu tantangan utama dalam produksi ternak adalah risiko kontaminasi bakteri patogen seperti bakteri *Salmonella pullorum* yang menyebabkan penyakit berak kapur sehingga menurunkan produksi telur, daya tetas, dan mortalitas tinggi [1]. Bakteri *Bacillus cereus* pada daging ayam menyebabkan keracunan dan diare bagi manusia yang mengkonsumsinya. Kualitas daging ayam dipengaruhi oleh pemeliharaan saat masih hidup, seperti pemberian pakan, perawatan, dan kebersihan. Setelah dipotong, kualitasnya bergantung pada proses perdarahan dan risiko kontaminasi mikroba [2]. Penambahan antibiotik dalam formulasi pakan unggas terbukti mampu meningkatkan performa pertumbuhan ternak. Namun, penggunaannya tidak dianjurkan karena dapat memicu resistensi bakteri dan meninggalkan residu pada produk unggas [3]. Oleh karena itu, diperlukan alternatif alami sebagai pengganti antibiotik sintetis dalam pakan unggas, salah satunya melalui *feed additive* berbahan herbal. Beberapa tanaman herbal dikenal mengandung senyawa bioaktif yang memiliki potensi antibakteri. Salah satu contoh tanaman yang memiliki sifat antibakteri adalah belimbing wuluh [4]. Belimbing wuluh merupakan salah satu fitobiotik yang menjadi solusi karena mengandung senyawa bioaktif dan asam organik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen di saluran pencernaan [5]. Pendekatan ini tidak hanya mendukung kesehatan ternak, tetapi juga meningkatkan keamanan pangan yang lebih berkelanjutan.

Buah belimbing wuluh merupakan salah satu bahan alami yang memiliki sifat antibakteri dan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri [6]. Hal ini menunjukkan bahwa buah belimbing wuluh juga berpotensi sebagai antibakteri. Selain itu, belimbing wuluh merupakan tanaman obat tradisional yang kaya akan senyawa aktif seperti alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, fenol, dan triterpenoid [7]. Kandungan flavonoid pada buah belimbing wuluh menjadi salah satu komponen utama yang berpotensi besar sebagai agen antibakteri. Senyawa ini bekerja dengan merusak membran sel bakteri, mengganggu permeabilitasnya, serta menghambat ikatan enzim dan metabolisme energi, sehingga efektif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Selain itu, senyawa ini juga mampu membentuk kompleks yang menghambat sintesis dinding sel bakteri [8,9]. Resistensi terhadap antibiotik sintetis menjadi masalah dalam pengobatan penyakit infeksi, sehingga diperlukan upaya untuk mengembangkan obat tradisional berbahan herbal yang efektif membunuh bakteri [10]. Buah belimbing wuluh mengandung berbagai asam organik seperti asam asetat, sitrat, dan format, serta senyawa aktif seperti flavonoid, polifenol, tanin, dan saponin yang mampu mengubah pH dan menghambat pertumbuhan bakteri sehingga berpotensi menggantikan atau menyamai efektivitas antibiotik dalam menekan pertumbuhan mikroba [11]. Bakteri *Salmonella pullorum* menyebabkan penyakit *pullorum* yang ditandai dengan diare putih, menurunnya produksi telur dan daya tetas, serta dapat memicu kematian pada ayam di semua umur akibat toksin yang menyerang sistem pencernaan [12]. Diare umumnya disebabkan oleh makanan yang terkontaminasi bakteri, salah satunya Bakteri *Bacillus cereus* [13]. Sebagai alternatif pengobatan yang lebih aman, bahan alami dengan sifat antibakteri dapat dimanfaatkan. Buah belimbing wuluh memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen [14].

Konsentrasi terbaik sari buah belimbing wuluh dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* mulai dari 25% hingga 75% [15]. Hal ini menunjukkan bahwa belimbing wuluh berpotensi digunakan sebagai agen antibakteri alami. Berdasarkan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif dalam “Uji Aktivitas Antibakteri Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus* sebagai Alternatif *Feed additive* pada Unggas”.

2. Metode Penelitian

2.1. Materi Penelitian

Alat yang digunakan meliputi blender (*chopper*), cawan petri, oven, timbangan digital, spatula, bunsen, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, hot plate, autoclave, inkubator, vortex mixer, aluminium foil, *plastic wrap*, jarum ose, blue tip, mikropipet, rak tabung, jangka sorong, saringan halus, pH meter *hand scoon*, masker, spektrofotometer UV-Vis, kuvet UV-Vis, pipet tetes, dan *heat resistant gloves*.

Bahan penelitian terdiri atas buah belimbing wuluh, bakteri *Salmonella pullorum*, bakteri *Bacillus cereus*, Mueller Hinton Agar (MHA), cotton bud swab, alkohol 70%, NaCl 0,9%, Chemical antibacterial Behn Meyer, spiritus, *buffer powder* pH 4,01 dan 6,86, kuersetin, aquabidest, dan aquades.

2.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri atas 7 perlakuan dan 3 ulangan untuk pengujian bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*. Rancangan penelitian yang diterapkan meliputi R0 (kontrol positif menggunakan Chemical antibacterial Behn Meyer 1 g dalam 10 mL aquades steril); R1 (kontrol negatif menggunakan aquades steril); R2 (20% sari buah belimbing wuluh: 1 mL sari dalam 5 mL aquades steril); R3 (40% sari buah belimbing wuluh: 2 mL sari dalam 5 mL aquades steril); R4 (60% sari buah belimbing wuluh: 3 mL sari dalam 5 mL aquades steril); R5 (80% sari buah belimbing wuluh: 4 mL sari dalam 5 mL aquades steril); dan R6 (100% sari buah belimbing wuluh). Sari buah belimbing wuluh diperoleh dari 100 g buah belimbing wuluh segar yang diblender tanpa penambahan air (aquades) hingga diperoleh 60 mL sari buah belimbing wuluh.

2.3. Tahapan dan Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dalam sembilan tahapan yang terdiri atas uji flavonoid, uji pH, sterilisasi alat, pembuatan media, inokulasi bakteri, pembuatan suspensi bakteri, pembuatan sari buah belimbing wuluh, persiapan kontrol positif dan negatif, pembuatan serta inkubasi media uji daya hambat antibakteri, dan pengukuran aktivitas antibakteri. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu:

2.3.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida. Sari buah belimbing wuluh disiapkan dengan konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 1 mL sari buah belimbing wuluh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,2 mL larutan aluminium klorida ($AlCl_3$), 0,2 mL asam asetat 10%, 3 mL etanol 96%, dan 5,6 mL akuades. Campuran dihomogenkan menggunakan vortex mixer dan didiamkan selama waktu inkubasi. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan kadar flavonoid [16].

2.3.2 Uji pH

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter digital yang dikalibrasi dengan larutan dapar pH 6,86 dan pH 4,01 yang dibuat dari *buffer powder* yang dilarutkan dalam aquabidest hingga volume 250 mL. Pengukuran pH dilakukan pada sari buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan buah, yaitu muda, sedang, dan tua, serta tingkat kematangan sedang dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% sesuai perlakuan uji antibakteri. Pengukuran dilakukan hingga nilai pH menunjukkan kondisi stabil. pH meter dibilas menggunakan aquades serta dikeringkan menggunakan *tissue* sebelum digunakan kembali [17].

2.3.3 Sterilisasi Alat

Seluruh alat yang akan digunakan, seperti cawan petri, mikropipet, tabung reaksi, erlenmeyer, dan blue tip, dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun dan air bersih hingga bersih. Setelah kering, alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas hvs. Selanjutnya, dilakukan proses sterilisasi menggunakan oven pada suhu 150°C selama 30 menit. Jarum ose disterilisasi dengan cara dibakar di atas bunsen sampai pijar. Setelah proses sterilisasi selesai, alat-alat tersebut siap untuk digunakan [18].

2.3.4 Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Media dibuat dengan cara menimbang media MHA sebanyak 17,5 g, kemudian dilarutkan dalam 500 mL aquades steril menggunakan erlenmeyer. Larutan tersebut dihomogenkan dengan memanaskannya di atas hot plate hingga mendidih. Setelah larutan homogen, media disterilkan menggunakan autoklave. Penggunaan autoklave pada suhu 121°C selama 15 menit [19].

2.3.5 Inokulasi Bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*

Bakteri uji diambil menggunakan jarum ose yang telah disterilkan, kemudian ditanam pada media dengan teknik gores. Selanjutnya, media diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35°C hingga 37°C selama 24 jam [18].

2.3.6 Pembuatan Suspensi Bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*

Bakteri uji yang telah di inokulasi dengan jarum ose diambil menggunakan cotton bud swab, kemudian disuspensikan ke dalam tabung yang berisi 5 mL larutan NaCl 0,9%. Setelah itu, suspensi tersebut di vortex hingga warna larutan menjadi keruh [20].

2.3.7 Pembuatan Sari Buah Belimbing Wuluh

Pembuatan sari belimbing wuluh dimulai dengan mencuci belimbing wuluh hingga bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Setelah itu, belimbing wuluh dipotong kecil-kecil agar lebih mudah dihaluskan. Sebanyak 100 g buah belimbing wuluh segar ditimbang dan diblender tanpa menambahkan air (0 mL aquades) hingga halus agar konsentrasi sari tetap terjaga. Setelah proses penghancuran selesai, hasilnya disaring menggunakan saringan halus untuk memisahkan ampas dari sari. Dari 100 g buah belimbing wuluh yang digunakan, diperoleh sari buah belimbing wuluh sebanyak 60 mL. Sari buah belimbing wuluh yang dihasilkan kemudian ditampung dalam tabung reaksi steril dan siap digunakan sebagai sampel penelitian [21]. Larutan stok sari buah belimbing wuluh dibuat dengan lima tingkat konsentrasi, yaitu R2: 20% (1 mL sari buah belimbing wuluh + 5 mL aquades steril), R3: 40% (2 mL sari buah belimbing wuluh + 5 mL aquades steril), R4: 60% (3 mL sari buah belimbing wuluh + 5 mL aquades steril), R5: 80% (4 mL sari buah belimbing wuluh + 5 mL aquades steril), dan R6: 100% (sari buah belimbing wuluh tanpa aquades). Seluruh larutan dibuat secara aseptis, dihomogenkan, dan disimpan dalam tabung reaksi hingga dapat digunakan untuk uji daya hambat antibakteri terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*.

2.3.8 Persiapan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Penimbangan bahan untuk kontrol positif dilakukan dengan timbangan analitik untuk memastikan akurasi, sebanyak 1 g Chemical antibacterial Behn Meyer diambil dan dilarutkan dalam 10 mL aquades steril. Larutan ini digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan aquades steril tanpa penambahan zat lain digunakan sebagai kontrol negatif [22].

2.3.9 Pembuatan dan Inkubasi Media Uji Daya Hambat Antibakteri

Bunsen dinyalakan untuk menciptakan lingkungan steril dan mengurangi kontaminasi udara. Cawan petri dibuka, kemudian cotton bud swab dicelupkan ke dalam suspensi bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*, lalu disapukan merata di media MHA dengan pola horizontal dan vertikal. Cawan petri ditutup, diberi label sebagai penanda, dan diletakkan terbalik untuk mencegah kondensasi. Sumuran dibuat menggunakan blue tip dan diisi masing-masing 10 µl larutan sari buah belimbing wuluh 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, kontrol positif (Chemical antibacterial Behn Meyer), serta kontrol negatif (aquades steril). Setiap perlakuan dilakukan tiga ulangan. Semua cawan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam [23].

2.3.10 Pengukuran dan Klasifikasi Diameter Daya Hambat Antibakteri

Pengamatan dan pengukuran diameter daya hambat dilakukan menggunakan jangka sorong, dengan skala terkecil 0,05 mm. Diameter daya hambat diukur dari satu tepi daya hingga tepi berlawanan melalui pusat sumuran, baik secara horizontal maupun vertikal, dan dicatat selama daya hambat masih terlihat. Jika tidak terdapat daya hambat, diameter dianggap 0 mm. Hasil pengukuran kemudian dikategorikan berdasarkan tingkat kekuatan aktivitas antibakteri yang tergolong lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (10–20 mm), dan sangat kuat (>20 mm) [24].

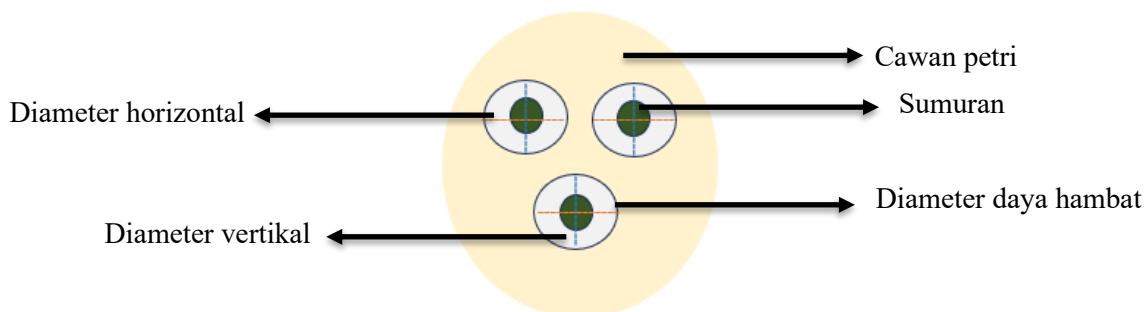
2.4. Parameter yang diukur

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid dan nilai pH sari buah belimbing wuluh, serta diameter daya hambat (mm), yang menunjukkan efektivitas antibakteri. Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur diameter daya hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk pada media uji [25]. Sebagai pembanding, digunakan kontrol positif (Chemical antibacterial Behn Meyer) dan kontrol negatif (aquades) untuk memastikan bahwa daya hambat yang terbentuk berasal dari aktivitas antibakteri sampel uji. Semakin besar daya hambatnya maka aktivitas antibakterinya akan semakin besar [26]. Pengukuran diameter daya hambat dapat dilakukan dengan rumus berikut [27]:

$$D \text{ (mm}^2\text{)} = \frac{D1 + D2 + Dn \dots n}{n}$$

Keterangan:

D = Diameter daya hambat
 $D1$ = Diameter vertikal
 $D2$ = Diameter horizontal
 n = Banyaknya data



Gambar 1. Ilustrasi diameter daya hambat

2.5. Analisis Data

Data hasil uji aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus* dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tujuh perlakuan, yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif, masing-masing dengan tiga ulangan. Pengukuran diameter daya hambat dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan.

Data dianalisis menggunakan ANOVA, hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan dan dilanjutkan dengan Uji Duncan [28].

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa flavonoid pada buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan, yaitu buah muda, sedang, dan matang. Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan kadar flavonoid pada setiap tingkat kematangan buah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar flavonoid buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan

Tingkat kematangan	Flavonoid (mg/kg)
Belimbing muda	12,263
Belimbing sedang	21,244
Belimbing matang	10,850

Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar flavonoid buah belimbing wuluh pada setiap tingkat kematangan. Buah belimbing wuluh muda memiliki kadar flavonoid sebesar 12,263 mg/kg sedangkan belimbing wuluh tingkat sedang menunjukkan nilai tertinggi yaitu 21,244 mg/kg. Nilai terendah diperoleh pada belimbing wuluh matang dengan kadar 10,850 mg/kg. Tingginya kadar flavonoid pada buah dengan kematangan sedang menunjukkan kondisi optimal senyawa flavonoid. Hasil ini menjadi dasar pemilihan sampel untuk uji aktivitas antibakteri, yaitu buah belimbing wuluh dengan tingkat kematangan sedang. Perbedaan kadar flavonoid pada buah belimbing wuluh dipengaruhi oleh perubahan komposisi kimia yang terjadi selama proses pematangan buah. Flavonoid yaitu senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas biologis, salah satunya sebagai antibakteri. Kandungan flavonoid yang lebih tinggi mencerminkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat [29,30].

3.2 Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui keasaman sari buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan dan variasi konsentrasi yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Nilai pH sari buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan

Tingkat kematangan	pH
Belimbing muda	1,5
Belimbing sedang	1,5
Belimbing matang	1,0

Tabel 2 menunjukkan nilai pH sari buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan. Belimbing wuluh muda dan sedang memiliki pH 1,5 sedangkan belimbing matang dengan pH 1,0 akibat akumulasi asam organik selama pematangan. pH menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba karena bakteri memiliki rentang pH tertentu untuk dapat tumbuh optimal. Secara umum, bakteri menyukai pH 7,0 meskipun terdapat bakteri yang mampu bertahan pada kondisi sangat asam (asidofil) dan sangat basa (alkalifil) [31]. Nilai pH sari buah belimbing wuluh berada pada kisaran sangat asam, yaitu 1,0 – 1,5 menunjukkan lingkungan kurang mendukung bagi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan pertimbangan nilai pH dan didukung dengan hasil uji flavonoid, buah tingkat kematangan sedang tetap digunakan pada uji pH dengan berbagai konsentrasi.

Tabel 3. Nilai pH sari buah belimbing wuluh tingkat kematangan sedang dengan berbagai konsentrasi

Konsentrasi (%)	pH
20	1,7
40	1,7
60	1,6
80	1,6
100	1,5

Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai pH sari buah belimbing wuluh tingkat kematangan sedang menurun seiring peningkatan konsentrasi. Pada konsentrasi 20% dan 40% sebesar 1,7 dan menurun menjadi 1,6 pada konsentrasi 60% dan 80%, serta mencapai pH terendah yaitu 1,5 pada konsentrasi 100%. Rasa asam belimbing wuluh disebabkan oleh kandungan asam organik, khususnya asam sitrat, yang meningkatkan jumlah ion H^+ di lingkungan bakteri sehingga mengganggu metabolisme sel bakteri dengan merusak fungsi membran serta menghambat kerja Adenosine Trifosfat (ATP) dan Asam Deoksiribonukleat (DNA) yang memerlukan kondisi netral [32]. Pola penurunan pH ini sejalan dengan

penelitian sebelumnya bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak belimbing wuluh maka semakin rendah pH yang dihasilkan (konsentrasi 7,5% dengan pH terendah 4,7, konsentrasi 5% dengan pH 5, dan konsentrasi 2,5% dengan pH 5,4 [33]. Berdasarkan batas pH pertumbuhan bakteri, bakteri *Salmonella pullorum* tumbuh pada pH 4,0 – 9,5 [34] dan bakteri *Bacillus cereus* pada pH 5,5 - 8,5 [35]. Berdasarkan literatur, fakta menunjukkan bahwa pH di bawah 3 dan di atas 9 akan menghambat pertumbuhan bakteri, karena pH terlalu tinggi atau terlalu rendah akan mempengaruhi ketahanan hidup organisme dan cenderung menyebabkan kematian bakteri [36]. pH 1,5 – 1,7 pada sari buah belimbing wuluh tingkat kematangan sedang menjadi acuan karena berada di bawah batas pertumbuhan bakteri, sehingga berpotensi efektif membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

3.3 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara eksperimental untuk mengetahui kemampuan sari buah belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*. Diameter daya hambat dari setiap perlakuan terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Diameter daya hambat (mm) terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus* pada berbagai konsentrasi sari buah belimbing wuluh (rata-rata $\pm$ SD)

Perlakuan	Ukuran daya hambat (mm)	
	<i>Salmonella pullorum</i>	<i>Bacillus cereus</i>
R0	TD ^a	5,50 $\pm$ 1,22 ^b
R1	TD ^a	TD ^a
R2	TD ^a	12,65 $\pm$ 2,78 ^{cd}
R3	12,90 $\pm$ 3,56 ^b	10,96 $\pm$ 3,06 ^c
R4	15,50 $\pm$ 4,51 ^b	15,32 $\pm$ 1,26 ^{de}
R5	18,32 $\pm$ 2,16 ^{bc}	18,56 $\pm$ 2,71 ^{ef}
R6	21,89 $\pm$ 5,23 ^c	22,15 $\pm$ 1,45 ^f

Keterangan: ^{abcdef} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$). R0 = kontrol positif (Chemical antibacterial Behn Meyer), R1 = kontrol negatif (aquades steril), R2 = 20%, R3 = 40%, R4 = 60%, R5 = 80%, R6 = 100% sari buah belimbing wuluh, TD = tidak ditemukan.

Tabel 4 menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*Salmonella pullorum*) dan menghambat pertumbuhan bakteri positif (*Bacillus cereus*). Aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri uji dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% memiliki ukuran daya hambat yang berbeda pada setiap bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*. Daya hambat sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Salmonella pullorum* tidak ditemukan pada konsentrasi 20% dan daya hambat pada konsentrasi 40% (12,90 $\pm$ 3,56 mm), 60% (15,50 $\pm$ 4,51 mm), 80% (18,82 $\pm$ 2,16 mm), dan 100% (21,89 $\pm$ 5,23 mm) sedangkan bakteri *Bacillus cereus* mulai terlihat pada konsentrasi 20% (12,65 $\pm$ 2,78 mm), 40% (10,96 $\pm$ 3,06 mm), 60% (15,32 $\pm$ 1,26 mm), 80% (18,56 $\pm$ 2,71 mm), dan 100% (22,15 $\pm$ 1,45 mm). Pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah Chemical antibacterial Behn Meyer sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Daya hambat kontrol positif tidak mampu menghambat (TD) pada bakteri *Salmonella pullorum* sedangkan bakteri *Bacillus cereus* mampu menghambat dengan diameter (5,50 $\pm$ 1,22 mm) sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya daya hambat (TD) terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dan *Bacillus cereus*. Tidak terbentuknya daya hambat dipengaruhi oleh keterbatasan difusi antibiotik dalam media agar dan kompleksitas struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang membatasi penetrasi antibiotik ke dalam sel bakteri [37,38]. Semakin tinggi konsentrasi sari buah belimbing wuluh, semakin besar daya hambat yang terbentuk. Hasil uji flavonoid dan uji pH menunjukkan bahwa penelitian ini menggunakan buah belimbing wuluh sedang karena mengandung flavonoid tertinggi yaitu 21,244 mg/kg dengan pH 1,5. Pemanfaatan sari buah belimbing wuluh dapat menjadi alternatif alami pengganti antibiotik sintetis sebagai *feed additive* yang mendukung kesehatan saluran pencernaan unggas. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa

tanaman herbal lokal mengandung senyawa bioaktif, salah satunya flavonoid yang berperan dalam meningkatkan kesehatan dan performa ternak [39].

3.3.1 Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Salmonella pullorum*

Tabel 4 menunjukkan tren bahwa semakin meningkat konsentrasi juga memperlihatkan diameter daya hambat masing-masing perlakuan juga meningkat. Perlakuan R0, R1, R2 signifikan berbeda nyata dengan perlakuan R3, R4, R5, dan R6. Kekuatan aktivitas antibakteri pada perlakuan R0, R1, dan R2 tergolong kategori tidak aktif (0 mm), karena tidak menunjukkan daya hambat (TD). Kondisi ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20%, senyawa antibakteri dari sari buah belimbing wuluh belum mampu menghambat bakteri *Salmonella pullorum*. Hal ini disebabkan oleh sifat bakteri Gram negatif yang memiliki dinding sel multilapis terdiri atas lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan dengan kandungan lipid tinggi sehingga penetrasi zat antibakteri menjadi lebih sulit [40].

Aktivitas antibakteri mulai terlihat pada perlakuan R3 ($12,90 \pm 3,56$ mm) tetapi tidak menunjukkan perbedaan nyata pada perlakuan R4 ($15,50 \pm 4,51$ mm) dan perlakuan R5 ($18,32 \pm 2,16$ mm), namun berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0; R1; R2 (TD) dan perlakuan R6 ($21,89 \pm 5,23$ mm). Perlakuan R5 ($18,32 \pm 2,16$ mm) tidak menunjukkan perbedaan nyata pada perlakuan R3 ($12,90 \pm 3,56$ mm), perlakuan R4 ($15,50 \pm 4,51$ mm), dan perlakuan R6 ($21,89 \pm 5,23$ mm) tetapi berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0; R1; R2 (TD). Perlakuan R6 ($21,89 \pm 5,23$ mm) berbeda nyata tertinggi ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan R0, R1, R2, R3, R4, dan R5. Peningkatan daya hambat terlihat seiring dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan. Aktivitas antibakteri perlakuan R3, R4, R5 tergolong kategori kuat dan perlakuan R6 tergolong kategori sangat kuat, berdasarkan tingkat kekuatan aktivitas antibakteri [24].

Konsentrasi zat bioaktif pada buah belimbing wuluh dapat memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, konsentrasi yang lebih tinggi akan menyebabkan tingkat kematian mikroba yang lebih besar [41]. Peningkatan aktivitas antibakteri disebabkan oleh kandungan senyawa aktif seperti flavonoid yang bekerja merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan ini menyebabkan kebocoran isi sel dan terganggunya metabolisme, sehingga bakteri mengalami kematian [42]. Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh kandungan flavonoid pada buah belimbing wuluh tingkat sedang sebesar 21,244 mg/kg.

Perbandingan antara kelompok perlakuan dan kontrol menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh pada perlakuan R6 lebih efektif dibandingkan kontrol positif yang menggunakan Chemical antibacterial Behn Meyer, karena mampu membentuk diameter daya hambat. Aktivitas antibakteri pada perlakuan R2 menunjukkan ketahanan bakteri sehingga tidak mampu terbentuk daya hambat. Peningkatan konsentrasi dapat memperlihatkan diameter daya hambat karena zat bioaktif yang lebih tinggi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa daya hambat terhadap bakteri *Salmonella sp.* dengan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh memiliki diameter 7,3 mm (sedang) dan buah belimbing wuluh 5 mm (lemah), perbedaan aktivitas antibakteri disebabkan oleh zat bioaktif pada daun belimbing wuluh lebih tinggi dibandingkan buahnya [43]. Selain itu, temuan dari penelitian yang berbeda, mengindikasikan bahwa terdapat peningkatan daya hambat seiring dengan peningkatan ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hal tersebut ditunjukkan oleh daya hambat konsentrasi 12,5% (3,21 mm), konsentrasi 25% (3,92 mm), konsentrasi 50% (4,7 mm), dan konsentrasi 100% (6,51 mm) [44].

3.3.2 Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Tabel 4 menunjukkan perubahan peningkatan diameter daya hambat seiring meningkatnya konsentrasi sari buah belimbing wuluh. Perlakuan R0 ($5,50 \pm 1,22$ mm) signifikan berbeda nyata dengan perlakuan R1, R2, R3, R4, R5, dan R6. Kekuatan aktivitas antibakteri pada perlakuan R0 tergolong kategori sedang, berdasarkan tingkat kekuatan aktivitas antibakteri [24]. Meskipun secara teori Chemical antibacterial Behn Meyer bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri, merusak permeabilitas membran, serta mengganggu proses sintesis RNA, protein, dan replikasi DNA, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara maksimal [45]. Sebaliknya, perlakuan R1 tidak menunjukkan adanya daya hambat (TD) sehingga berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0, R2, R3,

R4, R5, dan R6, karena hanya aquades steril yang diberikan tanpa tambahan apapun yang memiliki senyawa antibakteri. Aquades bersifat netral sehingga tidak memberikan efek pertumbuhan bakteri atau tidak memiliki aktivitas antibakteri [46]. Namun, pada penelitian ini terdapat penurunan diameter daya hambat dari perlakuan R2 ke perlakuan R3 sebelum kembali meningkat pada perlakuan selanjutnya disebabkan oleh perlakuan perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada konsentrasi yang berbeda [47].

Aktivitas antibakteri mulai terlihat pada perlakuan R2 ($12,65 \pm 2,78$ mm) tetapi tidak menunjukkan perbedaan nyata pada perlakuan R3 ($10,96 \pm 3,06$ mm) dan perlakuan R4 ($15,32 \pm 1,26$ mm), namun berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0 ($5,50 \pm 1,22$ mm), R1 (TD), R5 ($18,56 \pm 2,71$ mm), dan R6 ($22,15 \pm 1,45$ mm). Perlakuan R3 ($10,96 \pm 3,06$ mm) tidak menunjukkan perbedaan nyata pada perlakuan R2 ($12,65 \pm 2,78$ mm) tetapi berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0 ($5,50 \pm 1,22$ mm), R1 (TD), R4 ($15,32 \pm 1,26$ mm), R5 ($18,56 \pm 2,71$ mm), dan R6 ($22,15 \pm 1,45$ mm). Perlakuan R4 ($15,32 \pm 1,26$ mm) tidak menunjukkan perbedaan nyata dengan perlakuan R2 ($12,65 \pm 2,78$ mm) dan perlakuan R5 ($18,56 \pm 2,71$ mm) tetapi berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0 ($5,50 \pm 1,22$ mm), R1 (TD), R3 ($10,96 \pm 3,06$ mm), dan R6 ($22,15 \pm 1,45$ mm). Perlakuan R5 ($18,56 \pm 2,71$ mm) tidak menunjukkan perbedaan nyata pada perlakuan R4 ($15,32 \pm 1,26$ mm) dan perlakuan R6 ($22,15 \pm 1,45$ mm) tetapi berbeda nyata dibandingkan perlakuan R0 ($5,50 \pm 1,22$ mm), R1 (TD), R2 ($12,65 \pm 2,78$ mm), dan R3 ($10,96 \pm 3,06$ mm). Perlakuan R6 ($22,15 \pm 1,45$ mm) berbeda nyata tertinggi ($P < 0,05$) dibandingkan perlakuan R0, R1, R2, R3, R4, dan R5. Aktivitas antibakteri perlakuan R2, R3, R4, R5 tergolong kategori kuat dan perlakuan R6 tergolong kategori sangat kuat, berdasarkan tingkat kekuatan aktivitas antibakteri [24].

Bakteri Gram positif mudah diinhibisi karena tidak memiliki lapisan membran luar, senyawa aktif dari belimbing wuluh lebih mudah menembus dinding sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhannya [43]. Bahan alami seperti belimbing wuluh dapat dikategorikan sebagai *feed additive* karena ditambahkan ke pakan atau air minum untuk memberikan manfaat terhadap ternak unggas, meskipun penelitian sebelumnya menggunakan ekstrak daun, sementara penelitian ini menggunakan buah belimbing wuluh [48]. Aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh dipengaruhi oleh kandungan flavonoid pada tingkat kematangan sedang sebesar 21,244 mg/kg, sehingga semakin tinggi konsentrasi maka semakin besar diameter daya hambat. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, bahwa daya hambat terhadap bakteri Gram positif seperti bakteri *Propionibacterium acnes* dengan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh memiliki daya hambat pada konsentrasi 1,25% (18,3 mm) dan 2,5% (18,6 mm) tergolong kategori kuat sedangkan konsentrasi 5% (20,56 mm) dan 10% (24,7 mm) tergolong kategori sangat kuat, yang menunjukkan bahwa seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh, diameter daya hambat yang dihasilkan semakin besar. Terbentuknya daya hambat karena ekstrak daun belimbing wuluh mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid yang merusak sel bakteri [49]. Pada penelitian ini, tren menunjukkan peningkatan daya hambat dari perlakuan R0 hingga R6 sejalan dengan literatur yang melaporkan bahwa senyawa antibakteri, seperti flavonoid menyebabkan lisis sel bakteri melalui gangguan pada membran dan dinding sel, serta daya hambat cenderung meningkat seiring konsentrasi yang lebih tinggi karena difusi senyawa menjadi lebih efektif. Penurunan daya hambat pada perlakuan R3 dibanding R2 disebabkan oleh distribusi senyawa bioaktif yang kurang merata dari sumuran, sehingga difusi pada konsentrasi belum optimal [37,50].

Permasalahan dalam rantai pasok industri ayam ras pedaging adalah penggunaan *Antibiotic Growth Promoter* (AGP) dalam pakan unggas. Pelarangan penggunaan AGP diatur dalam Peraturan Menteri Pertanian Nomor 14 Tahun 2017 tentang Klasifikasi Obat Hewan, khususnya pada Pasal 16, yang menyatakan bahwa pemerintah melarang penggunaan obat hewan sebagai *feed additive*. Sejak peternakan ayam ras pedaging mulai berkembang di Indonesia pada tahun 1970, AGP digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan dan performa ternak, termasuk menambah berat badan, efisien pakan, dan menurunkan angka kematian. Disisi lain, AGP berdampak negatif pada kesehatan manusia karena residu pada karkas ayam dan bakteri yang resisten [51]. Secara keseluruhan, peningkatan konsentrasi sari buah belimbing wuluh menunjukkan peningkatan daya hambat terhadap bakteri *Salmonella pullorum* dan

Bacillus cereus, dengan kategori aktivitas antibakteri tergolong dari kuat hingga sangat kuat. Hal ini menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh memiliki potensi sebagai bahan alami yang dapat digunakan sebagai *feed additive* pada ternak unggas.

4. Kesimpulan

Sari buah belimbing wuluh menghambat bakteri *Salmonella pullorum* dengan memperlihatkan aktivitas antibakteri pada ($12,90 \pm 3,56$ mm - $21,89 \pm 5,23$ mm) dan bakteri *Bacillus cereus* ($10,96 \pm 3,06$ mm - $22,15 \pm 1,45$ mm), didukung kadar flavonoid tinggi dan pH asam, sehingga berpotensi sebagai *feed additive* alami unggas.

5. Daftar Pustaka

- [1] Hidayah N, R Puspita dan Mujahidah. 2020. Effect of *Curcuma domestica* Val extract on body weight, total of eosinophils and basophils in laying hens infected with *Salmonella pullorum*. *J Med Vet*. 3(2): 230–235. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol3.iss2.2020.230-235>.
- [2] Herliani. 2015. Identifikasi mikroba pada karkas ayam potong berasal dari RPA tradisional di Kota Pelaihari. *J Penelit Peternak Lahan Basah* 2. 2(1): 27–32.
- [3] Ginting EV, A Fatwa, SA Dimar, LU Albab, H Setiawan dan HT Saragih. 2023. Efektivitas ekstrak etanolik daun jambu mete sebagai pengganti enramycin terhadap performa pertumbuhan ayam layer jantan. *J Vet*. 24(4): 532–542. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2023.24.4.532>.
- [4] Dewi DATM. 2021. Uji daya hambat tanaman herbal berpotensi sebagai antimikroba alami. *J Bioshell*. 10(2): 66–69. <https://doi.org/10.56013/bio.v10i02.1123>.
- [5] Siregar YA, Montesqrit dan Harnentis. 2024. Pengaruh penambahan tepung daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan enkapsulasi belimbing wuluh sebagai *feed additive* terhadap performa broiler. *J Peternak Terap*. 6(1): 36–46. <https://doi.org/10.25181/peterpan.v6i1.3463>.
- [6] Male FCA, MP Rahayu dan D Wulandari. 2025. Uji aktivitas antibakteri fraksi dan ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmamedica Journal*. 10(2): 294–302.
- [7] Yanti S dan Y Vera. 2019. Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *J Kesehat Ilm Indones*. 4(2): 41–46.
- [8] Aseptianova dan EH Yuliany. 2020. Penyuluhan manfaat belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) sebagai tanaman kesehatan di Kelurahan Kebun Bunga, Kecamatan Sukarami, Palembang. *Abdihaz*. 2(2): 52-56. <https://doi.org/10.32663/abdihaz.v2i2.910>.
- [9] Abdullah N dan Munadirah. 2021. Efektivitas ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Media Kesehat Gigi*. 20(2): 13–20.
- [10] Ferdyani S, PF Yuniarto dan L Savitri. 2020. Uji aktivitas antibakteri sediaan gel ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Mhs Kesehat*. 2(1): 30–42. <https://doi.org/10.30737/jumakes.v2i1.1219>.
- [11] Wijayanti DA, O Sjoifan dan Djunaidi. 2019. Pengaruh variasi konsentrasi larutan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap uji aktivitas antimikroba secara *in vitro*. *J Ilmu-Ilmu Peternak*. 29(1): 9–14. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2019.029.01.02>.
- [12] Nugroho GP, AMS Apada dan F Rell. 2021. Identification of *Salmonella pullorum* in growing layer chickens using agglutination and macroscopic tests at a poultry farm in Sidrap Regency. *J Ilmu dan Teknol Trop*. 8(3): 217–224.
- [13] Safitri YD, YDN Azizah dan MH Nurjanah. 2024. Konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM) rebusan gagang cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Bacillus cereus* penyebab diare. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 5(2): 163-169.
- [14] Sandoram RS, N Lall, B Fibrich, ABV Staden, H Saleem dan MF Mahomoodally. 2019. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic evaluation of two underutilised food plants: *Averrhoa bilimbi* L. (*Oxalidaceae*) and *Phyllanthus acidus* L. Skeels (*Phyllanthaceae*). *Biocatal Agric Biotechnol*. 18(100998): 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.01.036>.

- [15] Datu JT, N Mita dan R Rusli. 2015. Aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Pros. Semin. Nas. Kefarmasian Ke-1, Samarinda. p. 36–42.
- [16] Mustofa CH, AL Nurrohman, AA Styawan, H Budiman dan M Arrosyid. 2024. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmu Farmasi*. 15(2): 151–155.
- [17] Anggoro N dan NC Endriyatno. 2024. Formulasi gel ekstrak daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) variasi carbopol 940 serta uji fisik dan stabilitasnya. *Sasambo J Pharm*. 5(1): 46–54.
- [18] Misna dan K Diana. 2016. Aktivitas bakteri ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Pharm*. 2(2): 138–144.
- [19] Wulandari S, YS Nisa, Taryono, S Indarti dan RS Sayekti. 2022. Sterilisasi peralatan dan media kultur jaringan. *Agrotechnology Innov*. 4(2): 16–19. <https://doi.org/10.22146/a.77010>.
- [20] Kosasi C, WA Lolo dan S Sudewi. 2019. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta identifikasi secara biokimia. *Pharmacon*. 8(2): 351–359. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29301>.
- [21] Anjarsari, S, DY Rahman dan R Sulistyowati. 2024. Pembuatan bio-baterai berbahan dasar sari belimbing wuluh dan NaCl sebagai sumber ion serta ampas singkong sebagai matriks. *J Penelit Fis dan Ter*. 6(1): 1–12.
- [22] Safari DA, Musyarrafah, Rozikin dan S Rini. 2025. Uji efektivitas antibakteri larutan lo'i keta dan ekstrak methanol lo'i keta terhadap pertumbuhan *Staphylococcus Epidermidis* dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *J Ilm Biol*. 13(3): 2148–2161.
- [23] Kesumawati, Mulyadi M dan M Fathia. 2022. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Kesehat Terap*. 8(1): 1–10.
- [24] Davis WW dan TR Stout. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. *Appl Environ Microbiol*. 22(4): 659–665. <https://doi.org/10.1128/aem.22.4.659-665.1971>.
- [25] Rahman IW, RN RNF, Ka'bah, HN Kristiana dan A Dirga. 2022. Potensi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) dalam menghambat pertumbuhan *Serratia marcescens*. *J Ilmu Alam dan Lingkungan*. 13(1): 14–22.
- [26] Emelda, EA Safitri dan A Fatmawati. 2021. Aktivitas inhibisi ekstrak etanolik *Ulva lactuca* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharm J Indones*. 7(1): 43–48.
- [27] Afnizar M, N Mahdi dan Zuraidah. 2016. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pros. Semin. Nas. Biot. p. 293–300.
- [28] Gaspersz V. 1991. *Metode perancangan percobaan*. CV. Armico, Bandung.
- [29] Rachmayati H, WH Susanto dan JM Maligan. 2017. Pengaruh tingkat kematangan buah belimbing (*Averrhoa carambola* L.) dan proporsi penambahan gula terhadap karakteristik fisik, kimia, dan organoleptik *jelly drink* mengandung karaginan. *J Pangan dan Agroindustri*. 5(1): 49–60.
- [30] Patimah S. 2021. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch berdasarkan tingkat kematangannya terhadap sel Vero. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- [31] Mardya IA, Gusmini dan Agustian. 2024. Pengaruh suhu dan pH media terhadap pertumbuhan isolat bakteri endofit terseleksi asal cabai merah (*Capsicum annuum* L.). *J Agroteksos*. 34(2): 692–699.
- [32] Cahyani HN. 2018. Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman sari buah belimbing wuluh (*Avverrhoa bilimbi* L.) terhadap total bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. dan kadar protein pada daging ayam. Skripsi. Universitas Islam Negeri Mulana Malik Ibrahim. Malang.
- [33] Nurjannah A, Z Fanani dan F Arif. 2025. Formulasi dan uji stabilitas fisik deodoran spray

- kombinasi ekstrak daun sirih merah (*Pipercrocatum Ruiz & Pav.*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. *Nusant Hasana J.* 5(4): 1–12.
- [34] Andari S dan D Yudhayanti. 2022. Isolasi dan identifikasi *Salmonella sp.* pada daging ayam segar yang dijual di Pasar Legi Ponorogo. *J Delima Harapan.* 9(2): 101–108.
- [35] Rachmawati ID, EY Mahtuti dan Faisal. 2025. Identifikasi bakteri gram positif dan gram negatif pada air limbah pabrik tepung tapioka Kabupaten Malang. *J Ilm Biosaintropis.* 11(1): 109–114.
- [36] Fajar I, IY Perwira dan NM Ernawati. 2022. Pengaruh derajat keasaman (pH) terhadap pertumbuhan bakteri toleran kromium heksavalen dari sedimen mangrove di Muara Tukad Mati, Bali. *Curr Trends Aquat Sci.* 1: 1–6.
- [37] Datta FU, AN Daki, I Benu, AIR Detha, NDFK Foeh dan NA Ndaong. 2019. Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar. Pros. Semin. Nas. VII. p. 66–85.
- [38] Elvira I, S Wahyuni dan N Asyik. 2016. Karakterisasi sifat biokimia isolat bakteri asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi wikau maombo. *J Sain Dan Teknol Pangan.* 1(2) :121–124.
- [39] Usu M. 2025. Pemanfaatan tanaman herbal lokal sebagai alternatif antibiotik dalam pakan ternak. *J Ilmu Peternak Indones.* 02(02): 19–24.
- [40] Hasanuddin NR, R Bachtiar, Y Selviani dan HWS Ningsih. 2024. Efektivitas larutan madu lebah barat (*Apis Mellifera*) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitan*. *Indones J Public Heal.* 2(4): 926–930.
- [41] Afifi R dan E Erlin. 2017. Uji antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) terhadap zona hambat bakteri jerawat *Propionibacterium acnes* secara *in vitro*. *J Kesehat Bakti Tunas Husada.* 17(2): 321–330.
- [42] Tilarso DP, A Muadifah, PI Pratiwi dan MH Nurjanah. 2024. Pengaruh suhu pemanasan dan variasi konsentrasi kombinasi ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dan daun sirih (*Piper betle*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Faskes.* 2(1): 22–34.
- [43] Naufali MN, H Komalasari, KG Pravritri dan I Adriansyah. 2025. Efektivitas antimikroba ekstrak daun dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp.*, dan *Salmonella sp.* *Jurnal Kolaboratif Sains.* 8(6): 3009–3016.
- [44] Widianingrum AR, N Marsha, M Shulchan dan Ardiansyah. 2017. Perbandingan daya hambat ekstrak daun dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap bakteri penyebab gingivitis pada pasien dengan ortodontik cekat. *Insisiva Dent J.* 6(1): 9–16.
- [45] Sarmira M, S Purwanti dan FN Yuliati. 2021. Aktivitas antibakteri ekstrak daun oregano terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai alternatif *feed additive* unggas. *J Ilmu Ternak Univ Padjadjaran.* 21(1): 40–49. <https://doi.org/10.24198/jit.v21i1.33161>.
- [46] Gerung WHP, Fatimawali dan I Antasionasti. 2021. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat. *Pharmacon.* 10(4): 1087–1093.
- [47] Qamariah N, R Handayani dan A Friskila. 2018. Uji daya hambat ekstrak etanol batang tumbuhan saluang belum terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Surya Med.* 4(1): 90–101.
- [48] Moenek DYJA dan NN Toelle. 2022. Daya inhibitor ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap bakteri intestinum pada ayam kampung (*Gallus domesticus*). Semin. Nas. Politani Kupang Ke-5, Kupang. p. 47–50.
- [49] Hasanah N dan DR Novian. 2020. Daya hambat ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri penyebab jerawat (*Propionibacterium acnes*). *J Ilm Farm.* 9(1): 46–53.
- [50] Busman, Edrizal dan SD Wirahmi. 2019. Daya hambat ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. Pros. Semin. Nas. VII. p. 19–28.
- [51] Shaffitri LR, Wahida, RP Perdana, N Ilham dan EA Suryana. 2024. Implementasi kebijakan usaha

pakan untuk mendukung pengembangan industri perunggasan. *Anal Kebijakan Pertan.* 22(1): 1–15.
<https://doi.org/10.21082/akp.v22n1.2024.1-15>.