

## Pemanfaatan Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai Alternatif *Feed Additive* Berdasarkan Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

(The Use of Starfruit (*Averrhoa bilimbi*) Juice as an Alternative Feed Additive Based on Its Antibacterial Activity Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*)

Zamsan Maharani<sup>1\*</sup>, Syukrah Nur Kaeriyah<sup>1</sup>, Sri Purwanti<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Program Sudi Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM.10, Tamalanrea Indah, Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90245

<sup>2</sup>Program studi peternakan, Departemen Nutrisi dan Makanan Ternak, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM.10, Tamalanrea Indah, Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90245

<sup>3</sup>Poultry Nutrition and Feed Research Group, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM.10, Tamalanrea Indah, Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, Sulawesi Selatan 90245

\*Corresponding author: [zamzanmaharani@gmail.com](mailto:zamzanmaharani@gmail.com)

**Abstrak.** Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik mendorong pencarian sumber antibakteri alami yang aman dan efektif sebagai pengganti antibiotik sintetik pada ternak. Salah satu bahan alami yang berpotensi adalah buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan asam askorbat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh tingkat kematangan sedang terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai alternatif *feed additive* pada unggas. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tujuh perlakuan dan tiga ulangan, meliputi kontrol positif, kontrol negatif, serta konsentrasi sari 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Uji dilakukan dengan metode sumuran pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sari belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, dan daya hambat meningkat seiring peningkatan konsentrasi ( $P < 0,05$ ). Konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat tertinggi pada *Staphylococcus aureus*  $17,19 \pm 2,02$ , meskipun masih lebih rendah dibandingkan kontrol positif dan *Escherichia coli*  $14,57 \pm 3,99$ . Penelitian ini membuktikan bahwa sari belimbing wuluh memiliki potensi sebagai antibakteri alami terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

**Kata kunci:** Belimbing wuluh, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *feed additive*

**Abstract.** The increase in bacterial resistance to antibiotics has driven the search for safe and effective natural antibacterial sources as an alternative to synthetic antibiotics in livestock. One potential natural substance is the fruit of the *Averrhoa bilimbi* L. (commonly known as bilimbi), which contains active compounds such as flavonoids, tannins, saponins, and ascorbic acid. This study aims to determine the antibacterial activity of starfruit juice at medium ripeness against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as an alternative feed additive in poultry. The study used a Completely Randomized Design (CRD) with seven treatments and three replications, including a positive control, a negative control, and juice concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. The test was conducted using the well diffusion method on *Mueller Hinton Agar* (MHA) medium and incubated for 24 hours at 37°C. The results showed that bilimbi juice was able to inhibit the growth of both test bacteria, and the inhibition increased with higher concentrations ( $P < 0.05$ ). A 100% concentration produced the highest inhibition zone on *Staphylococcus aureus*  $17,19 \pm 2,02$ , although it was still lower than the positive control and

*Escherichia coli*  $14,57 \pm 3,99$ . This study proves that bilimbi juice has potential as a natural antibacterial against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

**Keywords:** Bilimbi, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, feed additive

## 1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia [1]. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur. Penyakit infeksi yang biasanya terjadi disebabkan oleh beberapa bakteri patogen seperti *bakteri Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [2]. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan banyak penyakit karena mampu beradaptasi dengan baik pada berbagai jaringan, seperti kulit, kuku, jaringan lunak, tulang, sendi, saluran pernafasan, dan pembuluh darah. *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan penyakit diare [3]. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang umumnya dapat menyebabkan penyakit infeksi seperti diare, infeksi saluran kemih, dan beberapa jenis penyakit lainnya [4].

Penyakit merupakan kendala utama pada peternakan ayam di lingkungan tropis seperti di Indonesia. Kerugian ekonomis akibat penyakit, khususnya penyakit menular, dapat digambarkan dalam bentuk kematian, meskipun yang lebih sering terjadi adalah bentuk penurunan produksi seperti pada kelompok penyakit pernafasan [5]. Salah satu kebutuhan yang mendesak saat ini adalah menentukan penyakit yang ada pada peternakan ayam [6]. *Colibacillosis* adalah penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* patogen sebagai agen primer maupun sekunder [7]. Infeksi *Escherichia coli* dapat terjadi pada ayam pedaging dan petelur dari semua kelompok umur, serta unggas lainnya seperti kalkun dan itik [8].

Peningkatan performa ternak dengan pemberian antibiotik ini dikarenakan adanya modifikasi mikroflora yang terdapat pada saluran pencernaan ternak dengan cara membunuh bakteri-bakteri yang tidak menguntungkan (*pathogen*). Mekanisme kerja antibiotik dalam saluran pencernaan ternak dapat mempengaruhi performa ternak terutama interaksi antara berbagai jenis mikroorganisme dalam usus ternak [9]. Namun aplikasi antibiotik pada pakan ternak dapat meningkatkan resistensi bakteri-bakteri yang merugikan, sehingga dapat mempengaruhi kesehatan konsumen. Resistensi antibiotik adalah kemampuan mikroba untuk berkembang menjadi lebih resisten terhadap agen antimikroba yang sebelumnya dapat menghambat atau membunuhnya secara efektif [10].

Selain itu, aktivitas antibakteri dari tanaman telah menjadi fokus penelitian yang signifikan, terutama dalam konteks meningkatnya resistensi antibiotik di seluruh dunia. Peningkatan resistensi bakteri terhadap penggunaan antibiotik yang ada menekankan perlunya pencarian agen pengganti antibiotik yang efektif dan aman. Dalam hal ini, tanaman obat menjadi sumber yang menjanjikan karena memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa yang efektif melawan berbagai jenis bakteri patogen [11]. Belimbing wuluh mengandung asam organik yang begitu banyak dapat menjadi pakan imbuhan dan berpotensi sebagai pengganti antibiotik karena dapat mengeliminasi bakteri dan menghambat bakteri patogen dalam saluran pencernaan, serta dapat menstabilkan mikroflora saluran pencernaan unggas. Suasana asam dalam saluran pencernaan unggas dapat mereduksi metabolisme bakteri penghasil toksin dan membatasi pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri zoonosis. Kandungan asam-asam organik pada belimbing wuluh yang tinggi menjadikan belimbing wuluh sebagai *feed additive* karena dapat mencegah penyakit juga pengganggu pertumbuhan. Kandungan asam pada belimbing wuluh yang paling tinggi yaitu Asam Sitrat [12].

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) seringkali dimanfaatkan untuk mengobati sariawan, penyakit gondong, batuk, gusi berdarah, sakit gigi, sakit perut, menyehatkan fungsi pencernaan, dan mengatasi bau amis. Belimbing wuluh memiliki kandungan zat aktif antara lain flavonoid, tanin, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri [13]. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam belimbing wuluh adalah tipe luteolin dan apigenin [14]. Senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis protein [15].

Sari buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Konsentrasi sari buah belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* mulai pada konsentrasi 25%-75%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa belimbing wuluh berpotensi sebagai antibakteri alami terhadap bakteri patogen [16]. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L) sebagai alternatif *feed additive* berdasarkan aktivitas antibakteri terhadap *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli* dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% serta kontrol positif dan negatif untuk menguji efektivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri penyebab penyakit infeksi pada unggas..

## 2. Metode Penelitian

### 2.1 Materi Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital, *blender*, jarum ose, bunsen, *blue tip*, mikropipet, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *erlenmeyer*, tabung reaksi, rak tabung, jangka sorong, saringan halus, cawan petri, *vortex mixer*, *autoclave*, inkubator, laminar, oven, *plastic wrap*, pH meter, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis dan *heat resistant glovest*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas belimbing wuluh yang di peroleh dari Kabupaten Enrekang, bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), alkohol 70%, NaCl 0,9%, *catton bud swab*, spritus, aquades, *chemical antibakterial* Bhen Mayer kuersetin,, *buffer powder* pH 4,01 dan 6,86 dan Aquabides.

### 2.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 3 ulangan pada bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu R0 (Kontrol Positif (*Chemical Antibacterial*)); R1 (Kontrol Negatif (*Aquadest*)); R2 (Sari Belimbing Wuluh 20%); R3 (Sari Belimbing Wuluh 40%); R4 (Sari Belimbing Wuluh 60%); R5 (Sari Belimbing Wuluh 80%); R6 (Sari Belimbing Wuluh 100%).

### 2.3 Tahapan dan Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu :

#### 2.3.1 Uji flavonoid

Sari belimbing wuluh diperoleh dari buah belimbing wuluh segar yang telah dicuci bersih, kemudian dihancurkan dan disaring untuk memisahkan ampasnya. Sari yang diperoleh selanjutnya digunakan sebagai sampel uji. Sebanyak 1 mL sari belimbing wuluh dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL larutan  $AlCl_3$  2% dan 1 mL larutan kalium asetat 120 mM. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar. Setelah inkubasi, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 435 nm [17]. Uji ini dilakukan untuk menentukan kadar flavonoid pada buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan.

#### 2.3.2 Pengujian pH

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter yang dikalibrasi menggunakan *buffer powder* pH 4,01 dan pH 6,86 yang di larutkan dalam 250 mL aquabides. Alat pH meter dicelupkan pada sari buah belimbing wuluh kemudian tunggu sampai muncul angka indikator pada layar pH meter yang menunjukkan besarnya nilai pH sampel. Pengukuran pH dilakukan pada buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan yaitu muda, sedang dan tua serta tingkat kematangan sedang dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. [18].

#### 2.3.3 Sterilisasi alat

Seluruh peralatan seperti *erlenmeyer*, cawan petri, tabung reaksi, dan *blue tip* dicuci menggunakan sabun dan air bersih, kemudian dikeringkan dan dibungkus kertas. Peralatan yang telah dibungkus disterilisasi dalam oven pada suhu 150°C selama 30 menit

#### 2.3.4 Pembuatan media MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Sebanyak 5,7 g media MHA ditimbang dan dilarutkan dalam 150 mL akuades, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga mendidih. Media yang telah homogen disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit [19].

#### 2.3.5 Inokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil menggunakan jarum ose steril dan digoreskan pada media agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Prosedur ini dilakukan untuk masing-masing bakteri uji [20].

#### 2.3.6 Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung berisi 5 mL larutan NaCl 0,9% steril. Tingkat kekeruhan disesuaikan dengan menambahkan koloni jika terlalu jernih atau menambahkan NaCl apabila terlalu keruh [21].

#### 2.3.7 Pembuatan Sari Belimbing Wuluh

Buah belimbing wuluh dicuci, dipotong, diblender, dan disaring untuk memperoleh sari. Sari kemudian diendapkan untuk mendapatkan sari murni [22]. Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan mencampurkan sari dan akuades steril, larutan dibuat dengan perbandingan: 20% (1 mL sari belimbing wuluh + 5 mL akuades), 40% (2 mL sari belimbing wuluh + 5 mL akuades), 60% (3 mL sari belimbing wuluh + 5 mL akuades), 80% (4 mL sari belimbing wuluh + 5 mL akuades), dan 100% (sari belimbing wuluh tanpa akuades).

#### 2.3.8 Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Kontrol positif dibuat menggunakan senyawa *Chemical Antibacterial Bhen Meyer*. Prosedur dilakukan dengan menimbang antibiotik sebanyak 1 gr, kemudian dilarutkan dalam 10 mL akuades steril dan divortex hingga homogen. Selanjutnya, larutan antibiotik sebanyak 10 µL dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran pada media uji untuk menilai aktivitas antibakterinya.

#### 2.3.9 Pengujian Antibakteri

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil dan diaplikasikan secara merata pada permukaan media MHA (*Mueller Hinton Agar*) menggunakan kapas swab steril. Setelah itu, dibuat sumuran pada masing-masing cawan petri yang telah diinokulasi bakteri. Setiap cawan petri dibuat tiga sumuran sebagai ulangan, kemudian masing-masing sumuran diisi dengan sari buah belimbing wuluh pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Selain itu, disediakan kontrol positif (*Chemical antibacterial Bhen Meyer*) dan kontrol negatif (akuades). Pengisian sumuran dilakukan menggunakan blue tip secara aseptis. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Efektivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh ditentukan berdasarkan terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran. Adanya zona hambat mengindikasikan bahwa sari buah belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sehingga dikategorikan sebagai hasil positif.

#### 2.3.10 Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan pada media dilakukan setelah 24 jam pada masa inkubasi. Diameter zona hambat atau zona bening yang disekitar sumuran merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan diameter zona hambat. Zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran diukur dengan diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong [23].

#### 2.4 Parameter Yang Diukur

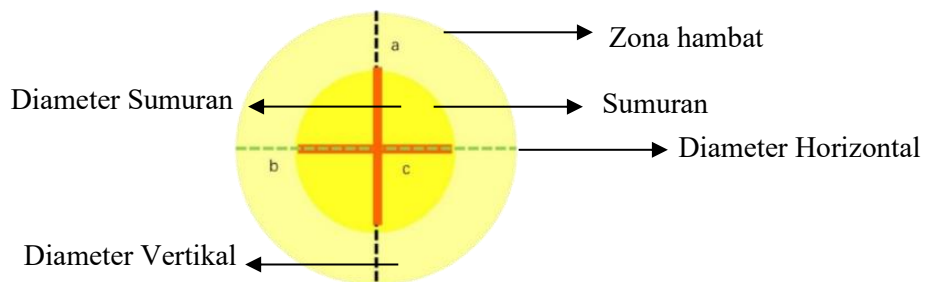
Parameter yang diukur pada penelitian ini yaitu zona hambat. Satuan yang digunakan dalam menghitung diameter zona hambat pada uji aktivitas antibakteri adalah milimeter (mm), kriteria kekuatan daya antibakteri yaitu diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat [24]. Selain itu, parameter lain yang dianalisis adalah kadar

flavonoid, serta nilai pH, yang diukur untuk mengetahui tingkat keasaman ekstrak dan hubungannya dengan aktivitas antibakteri. Rumus menghitung diameter zona hambat [25] yaitu sebagai berikut :

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

Keterangan :

D = Diameter Antibakteri  
D1 = Diameter Vertikal Antibakteri  
D2 = Diameter Horizontal Antibakteri  
n = Jumlah data



**Gambar 1.** Ilustrasi diameter zona hambat [26]

## 2.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 3 ulangan. Hasil ANOVA menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan, untuk melihat perbedaan di antara perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji Duncan [27].

## 3 Hasil dan Pembahasan

Pengujian aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode sumuran dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, serta kontrol positif dan kontrol negatif.

### 3.1 Pengujian Flavonoid

**Tabel 1.** Hasil uji flavonoid buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan buah

Tingkat Kematangan	Flavonoid (mg/Kg)
Balimbing Mudah	16,623
Belimbing Sedang	21,244
Belimbing Tua	10,850

Berdasarkan hasil uji fitokimia, kandungan flavonoid pada belimbing wuluh menunjukkan variasi yang dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah. Kandungan flavonoid tertinggi ditemukan pada belimbing wuluh tingkat kematangan sedang sebesar 21,244 mg/kg, diikuti oleh belimbing muda sebesar 16,623 mg/kg, sedangkan belimbing wuluh tua memiliki kandungan flavonoid terendah yaitu 10,850 mg/kg. Hasil ini menunjukkan bahwa tingkat kematangan buah berpengaruh nyata terhadap akumulasi senyawa flavonoid. Belimbing wuluh diketahui mengandung senyawa flavonoid [28]. Tingginya kandungan flavonoid pada belimbing wuluh tingkat kematangan sedang diduga berkaitan dengan fase optimal metabolisme sekunder tanaman, di mana proses biosintesis flavonoid berlangsung lebih aktif sebagai mekanisme pertahanan alami terhadap berbagai stres lingkungan. Kandungan flavonoid pada buah muda dilaporkan cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan buah tua [29].

Pada penelitian ini digunakan buah belimbing wuluh dengan tingkat kematangan sedang karena mengandung flavonoid yang tinggi. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain sebagai antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan antipiretik. Senyawa ini termasuk ke dalam golongan senyawa fenol yang berperan penting sebagai agen antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri meliputi penghambatan sintesis asam nukleat, gangguan terhadap fungsi membran sel, serta penghambatan metabolisme energi pada sel bakteri [30]. Selain itu, flavonoid juga mampu membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga merusak integritas membran sel bakteri dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler [31]. Mekanisme lain dari flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah melalui inhibisi pembentukan lapisan biofilm pada bakteri [32].

### 3.2 Pengujian PH

**Tabel 2** Pengujian pH buah belimbing wuluh berdasarkan tingkat kematangan buah

Tingkat Kematangan	Hasil Pengukuran pH
Belimbing Tua	1,5
Belimbing Sedang	1,5
Belimbing Muda	1,0

Tabel 2. Hasil pengujian pH menunjukkan bahwa seluruh sampel belimbing memiliki sifat sangat asam dengan nilai pH yang relatif rendah. Nilai pH terendah diperoleh pada belimbing tua, yaitu sebesar 1,0, diikuti oleh belimbing tingkat sedang dengan pH 1,5, serta belimbing muda yang memiliki nilai pH berkisar pada angka 1,5. Tingkat keasaman yang tinggi pada ekstrak belimbing berperan penting dalam mendukung aktivitas antibakteri, karena kondisi asam dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. [33] menyatakan bahwa aktivitas bakteri secara signifikan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, salah satunya adalah pH. Keasaman yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada struktur membran sel bakteri, menurunkan aktivitas enzim, serta mengganggu keseimbangan metabolisme sel. Umumnya, bakteri memiliki kisaran pH optimum yang relatif sempit, yaitu dapat tumbuh dengan baik pada pH 6,0–8,0, meskipun beberapa jenis bakteri masih mampu tumbuh pada pH ekstrim dengan kisaran optimum antara 3,0 hingga 10,5 [34]. Oleh karena itu, belimbing tua yang memiliki nilai pH paling rendah berpotensi menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih kuat dari aspek keasaman. Namun demikian, hasil uji kandungan flavonoid menunjukkan bahwa belimbing tingkat sedang memiliki kadar flavonoid paling tinggi dibandingkan belimbing tua dan belimbing muda. Temuan ini mengindikasikan bahwa tingkat kematangan buah tidak hanya mempengaruhi tingkat keasaman, tetapi juga berperan dalam akumulasi senyawa metabolit sekunder, khususnya flavonoid.

**Tabel 3.** Hasil uji pH pada buah belimbing wuluh sedang terhadap perlakuan/konsentrasi33

Perlakuan (%)	Hasil uji PH
20%	1,7
40%	1,7
60%	1,6
80%	1,6
100%	1,5

Tabel 3. Hasil pengujian pH berdasarkan variasi konsentrasi sari belimbing wuluh menunjukkan adanya perbedaan nilai pH yang nyata antar perlakuan. Pada konsentrasi rendah, yaitu 20% dan 40%, nilai pH relatif lebih tinggi, masing-masing sebesar 1,7. Seiring dengan peningkatan konsentrasi menjadi 60% dan 80%, nilai pH mengalami penurunan menjadi 1,6, sedangkan pada konsentrasi 100% diperoleh nilai pH terendah, yaitu 1,5. Pola penurunan pH menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi sari belimbing wuluh berbanding terbalik dengan nilai pH larutan. Buah belimbing wuluh tergolong sebagai sumber asam organik yang mengandung berbagai jenis asam, antara lain asam asetat, asam sitrat, dan asam format, serta senyawa bioaktif lainnya seperti flavonoid, polifenol, tanin, dan saponin. Keberadaan asam organik dan senyawa aktif tersebut berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Kandungan asam yang menyebabkan penurunan pH inilah yang diharapkan mampu menghambat bahkan membunuh bakteri, karena aktivitas asam organik dapat menurunkan total mikroba dan efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* serta jenis patogen lainnya [35].

### 3.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri

**Tabel 4.** Hasil pengukuran diameter daya hambat sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (rata-rata  $\pm$  SD)

Perlakuan (%)	Ukuran daya hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Kontrol Positif	24,31 $\pm$ 4,41 <sup>e</sup>	TD <sup>a</sup>
Kontrol Negatif	TD <sup>a</sup>	TD <sup>a</sup>
20%	1,45 $\pm$ 1,29 <sup>ab</sup>	TD <sup>a</sup>
40%	6,79 $\pm$ 5,88 <sup>bc</sup>	10,48 $\pm$ 1,33 <sup>b</sup>
60%	10,92 $\pm$ 1,12 <sup>c</sup>	11,71 $\pm$ 1,06 <sup>bc</sup>
80%	10,66 $\pm$ 2,06 <sup>c</sup>	12,91 $\pm$ 1,45 <sup>bc</sup>
100%	17,19 $\pm$ 2,02 <sup>d</sup>	14,57 $\pm$ 3,99 <sup>c</sup>

Keterangan: Superskrip (a, b, c, d, e) yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0.05$ ). TD = tidak ditemukan

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang disajikan pada Tabel 1, diketahui bahwa masing-masing konsentrasi memberikan respon yang berbeda terhadap kedua jenis bakteri. Zona hambat terbentuk dengan diameter yang bervariasi pada setiap perlakuan, menandakan adanya pengaruh tingkat konsentrasi sari buah belimbing wuluh terhadap kemampuan daya hambat antibakterinya.

Berdasarkan Tabel 4, daya hambat sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan pembanding yang di gunakan yaitu kontrol positif (*Chemical Antibacterial Behn Meyer*) dan kontrol negatif (akuades). *Staphylococcus aureus* (Gram positif) menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki zona hambat terbesar (24,31  $\pm$  4,41), sedangkan kontrol negatif tidak menimbulkan aktivitas antibakteri (TD). Pada konsentrasi 20% (1,45  $\pm$  1,29) daya hambat masih rendah, kemudian meningkat pada 40% (6,79  $\pm$  5,88), dan terus mengalami kenaikan pada 60% (10,92  $\pm$  1,12) serta 80% (10,66  $\pm$  2,06). Konsentrasi 100% (17,19  $\pm$  2,02) menghasilkan zona hambat tertinggi sehingga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan peningkatan daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus*. Sementara itu, pada *Escherichia coli* (Gram negatif) kontrol positif, kontrol negatif dan konsentrasi 20% tidak menunjukkan zona hambat (TD). Aktivitas antibakteri mulai tampak pada konsentrasi 40% (10,48  $\pm$  1,33), kemudian mengalami kenaikan pada 60% (11,71  $\pm$  1,06) dan 80% (12,91  $\pm$  1,45). Konsentrasi 100% (14,57  $\pm$  3,99) memberikan daya hambat paling tinggi terhadap *Escherichia coli*. Secara keseluruhan, konsentrasi 100% memberikan daya hambat paling tinggi terhadap kedua bakteri, sehingga sari buah belimbing wuluh berpotensi digunakan sebagai agen antibakteri alami pada konsentrasi tinggi.

#### 3.3.1 Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa kontrol positif pada *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat paling besar dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dibandingkan seluruh perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan efektivitas antibakteri kimia komersial yang lebih tinggi dibandingkan sari belimbing wuluh. Sebaliknya, kontrol negatif tidak menimbulkan zona hambat dan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dari perlakuan konsentrasi 20% yang menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri dari aquades. alasan penggunaan aquades sebagai kontrol negatif yaitu karena senyawa dari aquades bersifat netral yang tidak memberikan efek terhadap pertumbuhan bakteri atau tidak memiliki aktivitas antibakteri [36]

Pada konsentrasi 20%, daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* masih rendah dan tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) dengan konsentrasi 40%, namun berbeda dengan perlakuan konsentrasi yang lebih tinggi. Konsentrasi 40%, 60%, dan 80% membentuk kelompok yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ) satu sama lain, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi dalam rentang ini belum memberikan peningkatan daya hambat yang signifikan. Konsentrasi 100% berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dari konsentrasi

di bawahnya dan memberikan zona hambat terbesar di antara semua konsentrasi menunjukkan efektivitas antibakteri yang lebih kuat pada konsentrasi maksimum. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak senyawa aktif yang terkandung dalam sari buah belimbing wuluh, semakin besar pula daya hambatnya terhadap bakteri. Kemampuan suatu antimikroba dalam menghambat mikroorganisme dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi bahan antimikroba. Semakin tinggi konsentrasi suatu antimikroba, maka zona hambat yang terbentuk juga semakin besar. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba akan menambah zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga meningkatkan efektivitas dalam menghambat mikroba [37].

### 3.3.2 Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Pada *Escherichia coli*, kontrol positif, kontrol negatif, dan konsentrasi 20% berada dalam kelompok yang sama karena tidak menimbulkan daya hambat ( $P < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa antibakteri kimia komersial yang digunakan sebagai kontrol positif tidak efektif terhadap bakteri Gram negatif, sedangkan aquades sebagai kontrol negatif memang tidak memiliki aktivitas antibakteri. Konsentrasi 20% juga belum menunjukkan kemampuan penghambatan karena kandungan senyawa aktif pada sari belimbing wuluh masih terlalu rendah untuk menembus struktur membran luar *E. coli*. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks, terdiri dari tiga lapis yaitu lipoprotein (lapisan luar), lipopolisakarida (lapisan tengah) dan peptidoglikan (lapisan dalam) sehingga bersifat kurang rentan terhadap beberapa senyawa antibakteri [38].

Efektivitas antibakteri mulai terlihat pada konsentrasi 40% ( $10,48 \pm 1,33$ ), dengan munculnya daya hambat yang berbeda dari kelompok kontrol maupun konsentrasi rendah. Peningkatan konsentrasi pada 60% ( $11,71 \pm 1,06$ ) dan 80% ( $12,91 \pm 1,45$ ) memperlihatkan peningkatan daya hambat, meskipun perbedaannya belum signifikan ( $P < 0,05$ ). Kondisi ini menunjukkan bahwa pada rentang konsentrasi menengah, senyawa bioaktif dalam sari belimbing wuluh mulai bekerja lebih optimal, namun belum mencapai tingkat maksimum. Perubahan yang lebih nyata terjadi pada konsentrasi 100% ( $14,57 \pm 3,99$ ), yang menghasilkan daya hambat tertinggi dan berbeda dari seluruh konsentrasi di bawahnya. Hal ini menandakan bahwa efektivitas antibakteri sari belimbing wuluh sangat dipengaruhi oleh jumlah senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, dan saponin yang pada kadar maksimal mampu merusak struktur membran dan menghambat metabolisme *Escherichia coli*. Buah belimbing wuluh mengandung berbagai senyawa antibakteri, antara lain triterpenoid, saponin, tanin, flavonoid, dan alkaloid yang berkontribusi terhadap aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri [39]. Selain itu buah belimbing wuluh juga diketahui mengandung triterpenoid dan flavonoid yang berperan penting sebagai agen antibakteri, serta kaya akan asam-asam organik yang turut mendukung efektivitas penghambatan terhadap bakteri patogen [22].

Hasil ini menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri uji, dengan efektivitas yang meningkat seiring bertambahnya konsentrasi. Kekuatan daya hambat tersebut dapat diklasifikasikan berdasarkan kriteria diameter zona hambat, apabila zona hambat yang terbentuk  $\leq 5$  mm menunjukkan kekuatan daya hambat lemah, 6 – 10 mm menunjukkan kekuatan daya hambat sedang, 11 – 20 mm menunjukkan daya hambat kuat,  $\geq 21$  mm menunjukkan kekuatan daya hambat yang sangat kuat [40].

Kemampuan antibakteri sari buah belimbing wuluh ini diduga berasal dari senyawa metabolit sekundernya seperti flavonoid, tanin, saponin, dan asam askorbat. Flavonoid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara merusak integritas membran sel bakteri dan mengganggu sintesis asam nukleat. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi [41]. Adapun fungsi dari senyawa flavonoid diantaranya sebagai antibakteri dan antivirus pada tanaman. Flavonoid dapat merusak membran sel bakteri sehingga keluarnya senyawa intraseluler dapat menghambat fungsi membran sel dengan cara terbentuknya senyawa kompleks oleh protein ekstraseluler dan menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat sistem respirasi yang digunakan oleh bakteri [42].

Sari buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

dan *Staphylococcus epidermidis*, dengan zona hambat yang meningkat seiring naiknya konsentrasi dari 25% hingga 75%. Sari belimbing wuluh lebih efektif menghambat bakteri Gram negatif dibandingkan Gram positif, karena perbedaan struktur dinding sel yang memengaruhi sensitivitas terhadap senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin. Konsentrasi 75% merupakan konsentrasi paling efektif dalam menghasilkan zona hambat terbesar pada kedua bakteri. Namun, dibandingkan dengan kontrol positif amoksisilin, potensi antibakteri sari belimbing wuluh masih lebih rendah, ditunjukkan oleh zona hambat yang lebih kecil dan hasil uji statistik yang menunjukkan perbedaan signifikan [16].

#### 4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sari buah belimbing wuluh dengan tingkat kematangan sedang terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dengan daya hambat yang meningkat seiring peningkatan konsentrasi. Aktivitas penghambatan mulai terlihat pada konsentrasi 20% untuk *Staphylococcus aureus* dan 40% untuk *Escherichia coli*, kemudian mencapai efektivitas tertinggi pada konsentrasi 100% untuk kedua bakteri. Kontrol positif menghasilkan zona hambat terbesar pada *Staphylococcus aureus*, sedangkan pada *Escherichia coli* tidak menunjukkan penghambatan. Secara keseluruhan, konsentrasi 100% merupakan konsentrasi paling efektif dan menunjukkan bahwa sari belimbing wuluh berpotensi sebagai antibakteri alami pada konsentrasi tinggi.

#### 5. Daftar Pustaka

- [1] Hina SBJ dan Picauly I. 2021. Hubungan faktor asupan gizi, riwayat penyakit infeksi dan riwayat asi eksklusif dengan kejadian stunting di Kabupaten Kupang. J Pangan Gizi Dan Kesehat. 10(2):61–70. <https://doi.org/10.51556/ejpazih.v10i2.155>.
- [2] Sukmawati IK, Bahri S dan Nurfitri RS. 2019. Aktivitas antibakteri ekstrak tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus cereus*. J Pharmacopolium. 2(2):63–67.
- [3] Astuti W, Susanti D dan Tutik. 2024. Uji antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode dilusi. J Ilmu Kedokt Dan Kesehat. 11(5):1038–1049.
- [4] Putri T, Soleha AU, Nareswari, T dan Ramadhian RSM. 2024. *Enterobacteriaceae* sebagai bakteri patogen infeksi nosokomial di rumah sakit. Medula. 14(1):117–128.
- [5] Aminuddin N, Taufiq dan Amaliah IB. 2019. Aplikasi web mobile sistem pakar diagnosa penyakit ayam ras petelur. Technol Accept Model. 10(1):33–40.
- [6] Moenek DYJA, Oematan AB dan Toelle NN. 2019. Keragaman endoparasit gastrointestinal (*Gallus domesticus*). Sustain. 11(1):1–14. <https://doi.org/10.35508/jkv.v7i2.04>.
- [7] Saraswati RA, Safitri M, Rahmah DNH, Monika C, Camalia S, Putri CS, et al. 2019. Potensi senyawa antimikrobia dari organ tanaman ramuan nginang. Pros Semin Nas Pendidik Biol Dan Saintek 209–212.
- [8] Jamin F, Abrar M, Dewi M, S.V.S Y, - F, Manaf ZH, et al. 2015. Infeksi bakteri *Escherichia coli* pada anak ayam kampung (*Gallus domesticus*) di pasar Lambaro Aceh Besar. J Med Vet. 9(1):54–56. <https://doi.org/10.21157/j.med.vet..v9i1.2998>.
- [9] Delima M, Samadi dan Latif H. 2017. Evaluasi respon pemberian berbagai imbuhan pakan (*Feed Additives*) sebagai pengganti antibiotik pada ransum terhadap performa dan kualitas karkas ayam kampung. Pros Semin Dan Agribisnis Peternak. 1(1):167–75.
- [10] Kurnianto MA dan Syahbanu F. 2023. Resistensi antibiotik pada rantai pasok pangan: tren, mekanisme resistensi, dan langkah pencegahan. Agrotek J Teknol Ind Pertan. 17(3):608–621. <https://doi.org/10.21107/agrotek.v17i3.14771>.
- [11] Idrus I, Nasrun EK dan Ramandha MEP. 2024. Profil fitokimia dan aktivitas antibakteri bunga kekara laut (*Canavalia rosea*) menggunakan metode difusi cakram. Biocity J Pharm Biosci Clin Community. 2(2):77–88. <https://doi.org/10.30812/biocity.v2i2.3988>.
- [12] Wiradimadja R, Tanwiriah W dan Rusmana D. 2015. Efek penambahan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam ransum terhadap performan, karkas dan income over feed cost ayam

- kampung. Ziraa'ah Maj Ilm Pertan. 40(2):86–91.
- [13] Abdullah N dan Munadirah. 2021. Efektivitas ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. J Media Kesehat Gigi. 20(2):13–20.
- [14] Firmansyah F, Khairiati R, Muhtadi WK dan Chabib L. 2022. Uji aktivitas antibakteri serum ekstrak etanol buah belimbing wuluh terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermis*. Orig Artic MFF. 26(2):69–73. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i2.18578>.
- [15] Tilarso DP, Muadifah A, Handaru W, Pratiwi PI dan Khusna ML. 2021. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun sirih dan belimbing wuluh dengan metode hidroekstraksi. Chempublish J. 6(2):63–74. <https://doi.org/10.22437/chp.v6i2.21736>.
- [16] Datu JT, Mita N dan Rusli R. 2015. Aktivitas antibakteri sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. Proceeding Mulawarman Pharm Conf. 2015;1(1):36–42.
- [17] Aminah, Tomayahu N dan Abidin Z. 2017. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etanol kulit buah alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometer UV-Vis. J Fitoformaka Indones. 4(2):226–230.
- [18] Dwiloka B, Taufiqul F dan Mulyani S. 2021. Nilai pH, viskositas dan hedonik sari buah jeruk manis dengan penambahan gelatin tulang ikan bandeng. J Agri-Food, Nutr Public Heal. 2(2):107–113.
- [19] Mopangga E, Yamlean PVY dan Abdullah SS. 2021. Formulasi sediaan sabun mandi padat ekstrak etanol daun gedi (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. J Pharmacon. 10(30):1017–1024.
- [20] Alouw G, Fatimawali F dan Lebang JS. 2022. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun karsen (*Muntingia calabura* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi sumuran. J Farm Medica/Pharmacy Med J. 5(1):36–44. <https://doi.org/10.35799/pmj.v5i1.41430>.
- [21] Wahyuningsih ES, Puspitasari M, Gunarti NS dan Alkandahri MY. 2023. Uji aktivitas antibakteri face ekstrak etanol daun andong merah (*Cordyline fruticosa* (L) A. Chev.) terhadap *Propionibacterium acnes*. Pharma Xplore J Sains Dan Ilmu Farm. 8(2):104–127. <https://doi.org/10.36805/jpx.v8i2.5907>.
- [22] Prasetya dan Evanuraini. 2019. Kualitas mayonnaise menggunakan sari belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) sebagai pengasam ditinjau dari kestabilan emulsi, droplet emulsi dan warna. J Ilmu Dan Teknol Has Ternak. 14(1): 20-29.
- [23] Magfirah T, Marwati dan Ardhani F. 2019. Uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospital* L.). 2(1):41–50.
- [24] Rahayuningsih SR, Patimah SS, Mayanti T dan Rustama MM. 2023. Aktivitas antibakteri ekstrak n-Heksana daun mangrove (*Rhizospora stylosa* Griff) terhadap bakteri patogen pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). J Mar Res. 12(1):1–6. <https://doi.org/10.14710/jmr.v12i1.35657>.
- [25] Magani AK, Tallei TE dan Kolondam BJ. 2020. Uji antibakteri nanopartikel kitosan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. J Bios Logos. 10(1):7–12.
- [26] Tjiptoningsih UG. 2021. Uji daya hambat air perasan buah lemon (*Citrus Limon* (L.) Burm. F.) terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. J Ilm Dan Teknol Kedokt Gigi. 16(2):86–96. <https://doi.org/10.32509/jitekgi.v16i2.1100>.
- [27] Gaspersz V. 1991. Metode perancangan percobaan. Armico Bandung : 427.
- [28] Putriani K, Aisyah DN dan Wardaniati I. 2024. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun petai cina (*Laucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Salmonella typhi*. J Pendidik Biol. 10(1):508–516.
- [29] Aharuddin, Mustapa K and Jura MR. 2020. Analysis of flavonoid levels in extract of Gambas Fruit (*Luffa acutangula* L) originating from the village of posona district parigi moutong. J Alkademika Kim. 9(2):102–106. <https://doi.org/10.22487/j24775185.2020.v9.i2.pp102-106>.
- [30] Komalasari M, Alkausar R dan Retnaningsih A. 2021. Uji daya hambat ekstrak daun sirsak

- (annona muricata L) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram. J Anal Farm. 6(2):73–78.
- [31] Malik Fa, Suryawati, Mahdani W dan Suardi HN. 2019. Uji aktivitas madu seulawah sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. J Bioleuser. 3(1):5–9.
- [32] Anwar I, Nuralifah, Parawansah, Trinovitasari Ni, Hikmah N dan Malina R. 2023. Aktivitas antibakteri gram positif serta penetapan kadar flavonoid dan fenolik total dari ekstrak dan fraksi daun jati (*Tectona grandis* Linn.F.). J Penelit Biol. 10(2):74–87.
- [33] Wihansah RR, M. Yusuf MA, A. Y. Oktaviana R, Negara JK dan Sio AK. 2018. Pengaruh pemberian glukosa yang berbeda terhadap adaptasi *Escherichia coli* pada cekaman lingkungan asam. Jurbal Sains Peternak Indones. 13(1):29–35.
- [34] Apriliani PD, Kurniati I, Dermawan A, Iin A, Indra N, Studi P, et al. 2023. Penggunaan tepung kacang kedelai hitam sebagai media alternatif nutrient agar untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. J Kesehat Siliwing. 4(1):268–276.
- [35] Wijayanti DA, Sjoftan O dan Djunaedi IH. 2019. Pengaruh variasi konsentrasi larutan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap uji aktivitas antimikroba secara In vitro In vitro antimicrobial test for Averrhoa bilimbi extract at different level. J Ilmu-Ilmu Peternak. 29(1):9–14. <https://doi.org/10.21776/ub.jiip.2019.029.01.02>.
- [36] Gerung WHP, Fatmawati dan Antasionasti I. 2021. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne* penyembap jerawat. Pharmacon– Progr Stud Farm Fmipa, Univ Sam Ratulangi. 10(4):1087–1093.
- [37] Ernawati E dan Jannah N. 2021. Aktivitas antimikroba perasan daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Candida albicans* dan *Pseudomonas aeruginosa*. J Kedokt Dan Kesehat. 17(2):137-144. <https://doi.org/10.24853/jkk.17.2.137-144>.
- [38] Geofani C, Septianingrum NMAN dan Dianita PS. 2022. Literature review: efektivitas daya hambat antibakteri tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Borobudur Pharm Rev. 2(2):36–49. <https://doi.org/10.31603/bphr.v2i2.6699>.
- [39] Sarswati ANA, Rahmadani AP, Ramaniya JAC, Awallia PL dan Tristananda S. 2025. Standarisasi spesifik, non spesifik, dan skrining fitokimia etanol buah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi*.L). J Farm IKIFA. 4(1):11–22.
- [40] Zidni MI dan Walid M. 2024. Daya hambat bakteri Staphylococcus aureus pada ekstrak metanol daun jambu biji merah (*Psidium guajava* L. var. *pomifera*). OBAT J Ris Ilmu Farm Dan Kesehat. 2(3):87–91. <https://doi.org/10.61132/obat.v2i3.366>.
- [41] Vincan DT, Iqbal M, Triyandi R dan Oktralina RZ. 2023. Aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah kelor (*Moringa Oleifera*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. J Mandala Pharmacon Indones. 4(2):649–654. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v4i02.30>.
- [42] Damayanti SP, Mariani R and Nuari DA. 2022. Literature Study: Antibacterial activity of binahong leaves (*Anredera cordifolia*) against *Staphylococcus aureus*. J Farm Sains Dan Terap. 9(1):42–48.