



**KEMAMPUAN PERASAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi*)  
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Lactobacillus sp.***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk  
menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi

Oleh

**Arif Dwi Cahyono  
NIM. 021610101052**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2007**

## **PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda Sularno dan ibunda Kamiyem tercinta, yang selalu memberikan do'a, kasih sayang yang tiada henti, dukungan serta pengorbanan selama ini.
2. Kakakku Wahyu Eko Priyo Utomo dan adikku Anang Tri Yulianto terima kasih atas semangat yang telah kalian berikan.
3. Rematika Rohma Sari, terima kasih atas dukungan yang telah engkau berikan.

## **MOTTO**

**”Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat” ( Surat Mujadalah ayat 11 )**

**”Barang siapa menempuh jalan untuk menuntut ilmu, maka Allah memudahkan bagi orang itu karena ilmu tersebut jalan menuju ke surga” ( HR. Muslim )**

## **PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

**Nama : Arif Dwi Cahyono**

**NIM : 021610101052**

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ini yang berjudul "**Kemampuan Perasan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus sp.*"** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 November 2007

Yang Menyatakan,

**Arif Dwi Cahyono**

## **PEMBIMBINGAN**

## **SKRIPSI**

### **KEMAMPUAN PERASAN DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi*) DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN BAKTERI *Lactobacillus sp.***

Oleh

**Arif Dwi Cahyono**

**NIM 021610101052**

### **Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama : drg. H.A. Gunadi, M. S., Ph.D.

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Depi Praharani, M.Kes.

## **PENGESAHAN**

Skripsi berjudul *Kemampuan Perasan Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Lactobacillus sp.* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari : Rabu

Tanggal : 14 November 2007

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

### **TIM PENGUJI**

**Ketua,**

drg. H.A. Gunadi, M.S., Ph.D.  
NIP. 131 276 664

**Sekretaris,**

drg. Dwi Warna Ayu F., M.Kes.  
NIP. 132 231 413

**Anggota,**

drg. Depi Praharani, M.Kes.  
NIP. 132 162 518

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember

drg. Hj Herniyati, M.Kes.  
NIP.131 479 783

## **PRAKATA**

Assalamualaikum Wr. Wb

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat & karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul ”**Kemampuan Perasan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus sp*”.** Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tiada terhingga kepada :

1. drg. Hj. Herniyati, M.Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Strata Satu Fakultas Kedokteran Gigi
2. drg. Mei Syafriyadi, MD.Sc, Ph.D. selaku Pembantu Dekan Urusan Akademik
3. drg. H.A. Gunadi, M.S., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dan pikirannya guna memberikan bimbingan dan arahan dari awal penulisan sampai terselesaiannya penulisan skripsi ini
4. drg Depi Praharani, M. Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikirannya guna memberikan bimbingan dan arahan dari awal penulisan sampai terselesaiannya penulisan skripsi ini
5. drg Depi Praharani, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Akademik
6. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
7. Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang memberi kesempatan penulis untuk melakukan penelitian guna penyusunan skripsi ini
8. Ayah dan Ibu yang selalu memberikan do'a dan semangat
9. Murobi-murobiku yang telah memberikan bekal ilmu agama

10. Teman-temanku warga kos Ar Raihan, sahabatku Mukhlis dan Bayu, semua rekan '02, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.  
Saran dan kritik penulis harapkan demi kesempurnaan penyusunan skripsi ini. Akhirnya penulis barharap, semoga dapat bermanfaat bagi rekan-rekan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember khususnya dan semua pembaca pada umumnya.

Jember, November 2007

Penulis

## RINGKASAN

**Kemampuan Perasan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus sp*; Arif Dwi Cahyono, 021610101052; 2007: 28 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember**

Karies gigi adalah penyakit yang menyerang permukaan gigi-geligi di dalam mulut dan mengakibatkan kerusakan secara perlahan-lahan dari jaringan keras mahkota gigi. Langkah pertama pada proses karies adalah pembentukan plak pada permukaan email yang keras dan halus. Langkah kedua, pembentukan sejumlah besar asam (pH 5,0) dari fermentasi karbohidrat oleh *Streptococcus* dan *Lactobacillus* dalam plak. *Lactobacillus sp.* dapat membuat asam laktat dari fermentasi karbohidrat terutama gula. Asam yang terbentuk akan mengakibatkan kerusakan jaringan keras gigi dimana terjadi demineralisasi permukaan dari email gigi. Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman asli Indonesia yang berkhasiat untuk kesehatan gigi dan mulut. Daun belimbing wuluh mengandung tanin yang mempunyai daya antimikroba. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan perasan daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*

Penelitian dilakukan dengan 70 subyek penelitian yang dibagi dalam 7 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif (aquades), kontrol positif (obat kumur Betadine), perasan daun belimbing wuluh 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%; masing-masing kelompok diinokulasi dengan bakteri *Lactobacillus sp.* dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam, kemudian dihitung jumlah koloni bakteri *Lactobacillus sp.*. Selanjutnya dilakukan analisis data dengan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah koloni bakteri *Lactobacillus sp.* dari masing-masing kelompok. Sedangkan hasil uji Mann Whitney menunjukkan perasan daun belimbing wuluh 100% memiliki jumlah koloni paling sedikit dan perasan daun belimbing wuluh 6,25% memiliki

jumlah koloni paling banyak, dimana semakin besar konsentrasi perasan daun belimbing wuluh, maka semakin sedikit jumlah koloni *Lactobacillus sp.* Artinya semakin besar konsentrasi perasan daun belimbing wuluh, kemampuan menghambat pertumbuhan *lactobacillus sp.* semakin besar pula. Perasan daun belimbing wuluh 100% dan kontrol positif (obat kumur Betadine) mempunyai kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.* Sedangkan perasan daun belimbing wuluh dengan konsentrasi terkecil (6,25%) ternyata masih memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*, yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan bermakna jumlah koloni bakteri antara kontrol negatif dengan perasan daun belimbing wuluh 6,25%. Kesimpulan dari penelitian adalah perasan daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Belimbing Wuluh .....	4
2.1.1 Morfologi Tanaman .....	4
2.1.2 Komposisi Kandungan Kimia .....	5
2.1.3 Manfaat .....	6
2.2 <i>Lactobacillus</i> .....	7
2.2.1 Taksonomi .....	7
2.2.2 Morfologi .....	7
2.2.3 Fisiologi .....	8
2.2.4 Klasifikasi .....	9
2.2.5 Patogenitas <i>Lactobacillus sp.</i> .....	9
2.3 Bahan Antimikroba .....	10
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	13

3.2	Tempat dan Waktu Penelitian .....	13
3.3	Variabel Penelitian .....	13
3.3.1	Variabel Bebas .....	13
3.3.2	Variabel Terikat .....	13
3.3.3	Variabel Kendali .....	13
3.4	Definisi Operasional Variabel .....	14
3.4.1	Perasan Daun Belimbing Wuluh 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.....	14
3.4.2	Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus sp.</i> .....	14
3.5	Sampel Penelitian .....	14
3.5.1	Besar Sampel.....	14
3.5.2	Kriteria Sampel .....	14
3.5.3	Pengelompokan Sampel .....	15
3.6	Alat-alat dan Bahan-bahan Penelitian .....	15
3.6.1	Alat-alat Penelitian.....	15
3.6.2	Bahan-bahan Penelitian .....	16
3.7	Prosedur Penelitian .....	16
3.7.1	Tahap Persiapan .....	16
3.7.2	Tahap Perlakuan.....	19
3.7.3	Tahap Pengamatan .....	21
3.8	Analisis Data .....	22
3.9	Alur Penelitian .....	23
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		24
4.1	Hasil .....	24
4.2	Pembahasan .....	27
<b>BAB 5. KESIMPULAN .....</b>		31
5.1	Kesimpulan .....	31
5.2	Saran .....	31

## **DAFTAR PUSTAKA**

## **LAMPIRAN**

## **DAFTAR TABEL**

**Halaman**

4.1 Hasil penghitungan jumlah koloni bakteri <i>Lactobacillus sp.</i> pada <i>colony counter</i> dalam CFU ( <i>Colony Forming Unit</i> )	24
4.2 Hasil uji normalitas .....	25
4.3 Hasil uji normalitas setelah dilakukan transformasi data.....	26
4.4 Hasil uji Kruskal-Wallis.....	26
4.5 Hasil uji Mann Whitney .....	27

## **DAFTAR GAMBAR**

	<b>Halaman</b>
2.1 Tanaman belimbing wuluh.....	5
2.2 <i>Lactobacillus</i> .....	8
3.1 Cara pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.....	18
3.2 Cara untuk mendapatkan pengenceran $10^{-6}$ .....	20
3.3 Penghitungan koloni pada <i>colony counter</i> .....	22
4.1 Diagram batang dari rata-rata jumlah koloni bakteri <i>Lactobacillus sp.</i> .....	25

## **DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran A**   Rumus besar sampel
- Lampiran B**   Analisis data
- Lampiran C**   Foto alat dan bahan penelitian
- Lampiran D**   Foto hasil penelitian

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Menurut Eccles dan Green (1994:1-2) karies gigi adalah penyakit yang menyerang permukaan gigi-geligi di dalam mulut dan mengakibatkan kerusakan secara perlahan-lahan dari jaringan keras mahkota gigi. Pada proses karies, mula-mula plak melekat pada permukaan email yang halus. Kemudian dilanjutkan dengan pembentukan sejumlah besar asam (pH 5,0) dari fermentasi karbohidrat oleh *Streptococcus* dan *Lactobacillus* dalam plak. Asam yang terbentuk akan mengakibatkan kerusakan jaringan keras gigi dimana terjadi demineralisasi permukaan dari email gigi. Bila tidak dilakukan perawatan, akan meluas ke pulpa gigi dan dapat merusak seluruh mahkota gigi. Hal ini kemudian dapat menimbulkan rasa sakit, terganggunya fungsi mastikasi, inflamasi jaringan gingiva, pembentukan abses, perubahan penampilan pasien dan efek sosial yang berkaitan dengannya (Eccles dan Green, 1994:2; Dwidjoseputro, 1994:85). *Lactobacillus sp.* diduga merupakan bakteri kedua (sekunder) pada karies, karena ditemukan pada karies yang dalam. Mikroorganisme ini dapat menyebabkan lesi karies yang dalam, karena pada daerah tersebut tingkat keasamannya cukup tinggi dan ini merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan dan perkembanganya (Kusumaningsih, 1999:173).

Penelitian-penelitian di beberapa Fakultas Kedokteran Gigi menunjukkan banyak tanaman-tanaman asli Indonesia yang berkhasiat untuk kesehatan gigi dan mulut. Pemanfaatan tanaman obat tersebut sangat diperlukan dalam menunjang pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut (Depkes RI, 1999:15). Secara umum kegunaan tumbuhan obat sebenarnya disebabkan oleh kandungan kimia yang dimiliki (Hariana, 2005:1).

Terdapat 20 jenis tanaman yang dianjurkan oleh Departemen Kesehatan (Depkes) sebagai tanaman obat keluarga (toga). Selain jambu biji, jahe, kencur dan

bawang, belimbing wuluh juga termasuk salah satu dari 20 macam tanaman obat terpenting yang perlu ada dalam pekarangan rumah (Sarwono, 2001:19). Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan belimbing wuluh diantaranya adalah batuk pada anak, darah tinggi, jerawat, pegal linu, rematik, dan sakit pada gigi berlubang. Bagian tumbuhan yang digunakan untuk mengobati penyakit adalah daun, bunga dan buah.

Daun belimbing wuluh mengandung tanin yang berfungsi sebagai antimikroba untuk melawan *Staphylococcus* (BPPT, 2002:[www.iptek.net.id](http://www.iptek.net.id) [14 Oktober 2005]). Penelitian mengenai manfaat tanaman belimbing wuluh dalam kedokteran gigi menunjukkan bahwa perasan daun dan buah belimbing wuluh mempunyai daya anti bakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Dari berbagai konsentrasi yang diteliti, hasil yang didapatkan adalah perasan daun dan buah belimbing wuluh tanpa pengenceran, dengan pengenceran 1 kali, dan pengenceran 2 kali mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Orientasari, 2001:42).

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik untuk mengadakan penelitian tentang pengaruh dari tanaman belimbing wuluh tersebut terutama daunnya dalam bentuk perasan terhadap *Lactobacillus sp.* sebagai bakteri yang berperan pada proses perkembangan karies karena kemampuannya untuk memetabolisme glukosa dan memproduksi asam organik yang menurunkan konsentrasi pH dalam rongga mulut menjadi lebih asam (Jawetz dkk, 1996:190; Cappucino, 1983:367-368).

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang dapat dirumuskan dari latar belakang diatas adalah apakah perasan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp?*

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan perasan daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam:

1. memberikan tambahan informasi kepada praktisi medis atau mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi tentang obat alternatif untuk mencegah penyakit karies gigi dalam rangka mendukung upaya peningkatan kesehatan gigi dan mulut secara tradisional.
2. memberikan pengetahuan kepada masyarakat umum tentang fungsi tanaman ini dalam memelihara kesehatan gigi dan mulut
3. memberikan informasi untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Belimbing Wuluh

Belimbing adalah nama Melayu untuk jenis tanaman buah dari keluarga *Oxalidaceae*, marga *Averrhoa*. Tanaman belimbing dibagi menjadi dua jenis, yaitu belimbing manis (*Averrhoa carambola*) dan belimbing asam (*Averrhoa bilimbi*) atau lazim disebut belimbing wuluh (Lingga, 1987:1).

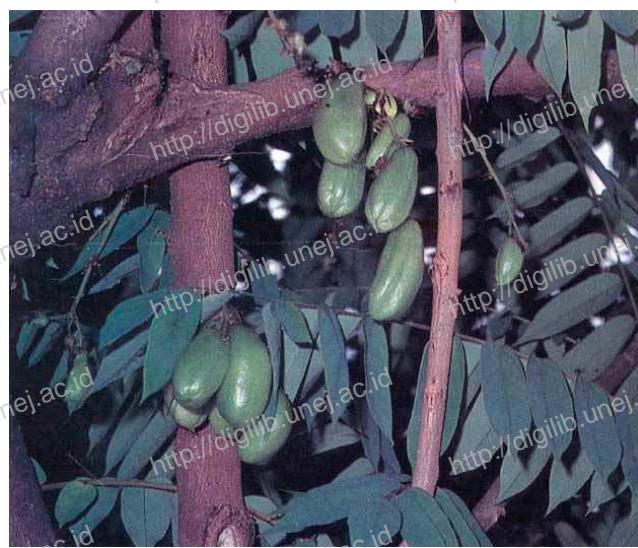
Menurut Hariana (2005:37) belimbing wuluh memiliki nama lain di daerah masing-masing, antara lain: blingbling buloh (Bali), blimbing wuluh (Jawa Tengah), bhalimbhing bulu (Madura), belimbing asem (Melayu), limbi (Bima), limeng (Aceh), bainang (Makasar), dan uteke (Irian).

#### 2.1.1 Morfologi Tanaman

Belimbing wuluh disebut juga belimbing asam karena diilhami dari rasa buahnya yang benar-benar asam. Tanaman ini banyak ditanam di pekarangan yang cukup memperoleh sinar matahari. Perdu atau pohonnya memiliki tinggi sekitar 5 – 10 m, bahkan bisa sampai 12 m. Batang pohnnya tidak begitu besar, keras, cabangnya sedikit, sehingga secara keseluruhan tanamannya tampak langsing. Pada batangnya terdapat daun yang berbentuk lonjong (bulat telur), tersusun berpasangan, ujung daunnya meruncing dan permukaan bawah daunnya berwarna hijau muda (Lingga, 1987:1; Santoso dan Gunawan, 1999:60; Maryani , 2002:22).

Bunga tanaman belimbing wuluh berbentuk bintang, berwarna merah muda atau ungu, merupakan bunga majemuk tandan dan menggantung. Mahkotanya menyempit dan berbentuk sundip. Kelopak bunganya kecil dan berukuran sekitar 6 mm (Santoso dan Gunawan, 1999:60). Bentuk buahnya mirip dengan daunnya, bulat lonjong berwarna hijau pekat waktu muda dan kekuningan setalah matang atau tua.

Buahnya seukuran telur puyuh dan bergelantungan pada batang dan dahannya. Dagingnya banyak mengandung air dan rasanya sangat masam (Lingga, 1987:1, Santoso dan Gunawan, 1999:60).



Gambar 2.1 Tanaman belimbing wuluh

Sumber: BPPT, 2002:[www.iptek.net.id](http://www.iptek.net.id) [14 Oktober 2005]

### 2.1.2 Komposisi Kandungan Kimia

Secara umum belimbing wuluh mempunyai kandungan unsur kimia, yaitu senyawa kalsium oksalat, vitamin C,  $\beta$  – karotena, niasin, riboflavin, dan tiamina yang merupakan komponen vitamin B kompleks (Santoso dan Gunawan, 1999:61). Pada bagian batang mengandung saponin, tanin, asam format, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, dan peroksida. Bagian daunnya mengandung tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, dan kalium sitrat (Hariana, 2005:36; BPPT, 2002: [www.iptek.net.id](http://www.iptek.net.id) [14 Oktober 2005]).

Menurut Martindale (1982:1655) vitamin C secara *invitro* dapat menghambat 16 strain *Pseudomonas aureginosa* dengan konsentrasi hambat minimalnya antara 3,3 $\pm$ 217 mg/ml. Vitamin ini juga dapat meningkatkan kerja bahan antibakteri seperti *ampicillin*, *eritromycin*, *cloramphenicol*, *colistin*, *metoxazole*, *triethroprim* dan lain-lain.

Asam format adalah desinfektan yang efektif untuk bakteri vegetatif, jamur dan banyak jenis virus tetapi kurang efektif untuk bakteri spora dan bakteri penghasil asam serta merupakan senyawa yang berbentuk cairan tak berwarna dan terdiri 25% w/v  $\text{CH}_2\text{O}_2$ . Unsur Sulfur digunakan sebagai antiseptik dan parasitisida serta merupakan senyawa yang berwarna kuning pucat atau hijau kekuningan, tidak berbau dan tidak berasa. Sedangkan peroksida digunakan sebagai desinfektan dan deodoran, berupa cairan yang mengandung 2,5 sampai 3,5 % w/v  $\text{H}_2\text{O}_2$ , tidak berwarna, kebanyakan tidak berbau dan berasa asam (Martindale, 1982:504-1232).

Tanin digunakan sebagai astringen untuk mukosa mulut dan tenggorokan, dapat juga untuk perawatan hemoroid, menyamak kulit serta merupakan senyawa *Pentidigalloylglucose* yang mempunyai rumus kimia  $\text{C}_{76}\text{H}_{52}\text{O}_{46}$  (Martindale, 1982:287; Mahtuti dan Yohani, 2006:www.digilib.unair.ac.id[16 Juni 2006]). Mereka ditemukan hampir di setiap bagian dari tanaman; kulit kayu, daun, buah, dan akar. Senyawa ini dibagi ke dalam dua kelompok yaitu, tanin yang dapat dihidrolisis dan tanin kondensasi (Mahtuti dan Yohani, 2006:www.digilib.unair.ac.id[16 Juni 2006]).

### 2.1.3 Manfaat

Belimbing wuluh memiliki rasa asam dan bersifat sejuk (Hariana, 2005:36). Buah dalam keadaan segar sering dijual di pasar tradisional untuk bumbu. Sebagai jamu, belimbing wuluh umumnya dimanfaatkan selagi masih segar dan tidak untuk disimpan dalam waktu lama. Selain digunakan sebagai obat tradisional atau jamu dan bumbu, belimbing wuluh juga dapat dibuat manisan, sampai untuk mencuci tangan yang berlumuran oli, membersihkan noda di pakaian dan barang-barang kuningan atau tembaga. Bunganya dimanfaatkan untuk obat batuk (Lingga, 1987:1; Maryani, 2002:22; Santoso dan Gunawan, 1999:60).

Tanaman ini juga bermanfaat untuk menghilangkan sakit (analgetik), memperbaik pengeluaran empedu, anti radang, peluruh kencing, astringent, menurunkan tekanan darah, jerawat, pegal linu, rematik, sakit pada gigi berlubang,

dan pelembut wajah (Kartasapoetra, 1996:8; Hariana, 2005:36-38; Santoso dan Gunawan, 1999:61).

## **2.2 *Lactobacillus***

### **2.2.1 Taksonomi**

Taksonomi dari bakteri *Lactobacillus sp.* adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*

Devisi : *Firmicutes*

Klas : *Bacilli*

Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

Spesies : *L. acidophilus*, *L. bulgaris*, *L. plantarum* dan lain-lain  
(Smith dan Conant, 1960:505).

### **2.2.2 Morfologi**

Bakteri asam laktat dikelompokkan dalam keluarga *Lactobacteriaceae*. *Lactobacillus* merupakan batang Gram positif yang mempunyai benda bipolar dan pewarnaannya belang-belang seperti *Corynebacterium*. Meskipun kelompok ini secara morfologi tidak homogen, ada yang berbentuk batang panjang, ada yang pendek, dan juga ada yang berbentuk kokus, tetapi dari segi fisiologi dapat dikarakterisasi relatif baik. Bakteri Gram positif ini, tidak membentuk spora dan tidak bergerak (Gupte, 1990:324; Schlegel dan Schmidt, 1994:314).



Gambar 2.2 *Lactobacillus*  
Sumber: Hart dan Shears (1997:37)

### 2.2.3 Fisiologi

Menurut Schlegel dan Schmidt (1994:314-316) untuk memperoleh energi, bakteri ini hanya menggantungkan dari karbohidrat dan mengekskresi asam laktat. Bakteri ini bersifat peragi obligat dan tidak mengandung hemin (sitokrom, katalase). Meskipun *Lactobacteriaceae* tidak mengandung senyawa ini, mereka dapat tumbuh di tempat-tempat yang ada oksigen. Bakteri ini bersifat anaerob, tetapi aerotoleran (bakteri yang tumbuh aerob tetapi tidak mengandung katalase).

Ciri khas lain dari *Lactobacillus* ialah kebutuhannya akan zat-zat suplemen. Tidak satu pun anggotanya dapat hidup pada medium mineral murni dengan glukosa dan amonium. Bakteri ini dibiakkan terutama pada media kompleks, yang mengandung ekstrak ragi, sari tomat, air dadih, bahkan darah dalam jumlah relatif besar. Dengan membentuk sejumlah besar laktat dan karena sifatnya yang toleran terhadap asam, maka bakteri-bakteri asam laktat dapat cepat berkembang pada kondisi lingkungan yang cocok (Schlegel dan Schmidt, 1994:314-316).

#### 2.2.4 Klasifikasi

Menurut Schlegel dan Schmidt (1994:317) sifat-sifat khusus yang dimiliki *Lactobacillus* yaitu, meragikan glukosa menjadi laktat saja atau menjadi produk peragian lain dan karbon dioksida, berdasarkan sifat tersebut *Lactobacillus* dibagi dalam homofermentatif dan heterofermentatif.

a. Peragian asam laktat homofermentatif

Bakteri asam laktat homofermentatif membentuk murni laktat atau hampir (90%) murni. Bakteri ini menguraikan glukosa melalui alur fruktosa difosfat termasuk aldolase, dan memindahkan hidrogen yang terjadi pada dehidrogenasi glicerinaldehid-3-fosfat kepada piruvat. Spesies dari homofermentatif adalah *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. acidophilus* dan *L. casei*, dan *L. Plantarum*.

b. Peragian asam laktat heterofermentatif

Bakteri asam laktat heterofermentatif tidak mempunyai enzim-enzim utama dari alur fruktosadifosfat, yaitu aldolase dan triosafosfat isomerase. Penguraian glukosa dimulai melalui alur pentosa fosfat, berarti melalui glukosa-6-fosfat, 6-fosfoglukonat dan ribulosa-5-fosfat. Spesies dari heterofermentatif adalah *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. buchneri* dan *L. viridescens*.

#### 2.2.5 Patogenitas *Lactobacillus sp.*

*Lactobacillus sp.* merupakan bakteri yang bersifat asidogenik dan asidurik yang berarti bakteri ini dapat membentuk asam sekaligus dapat hidup dalam suasana yang asam. Kemampuan inilah yang menyebabkan *Lactobacillus sp.* dapat hidup di dalam plak dan secara terus-menerus merusak struktur gigi. *Lactobacillus sp.* diduga merupakan bakteri yang berperan pada proses perkembangan atau proses kelanjutan karies. Penelitian epidemiologis menunjukkan bahwa populasi *Lactobacillus sp.* meningkat setelah karies terbentuk (Kusumaningsih, 1999:171-173; Mansjoer, 1999:151).

*Lactobacillus sp.* menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari metabolisme karbohidrat, dimana asam tersebut sangat kariogenik. Selain itu, asam

yang diproduksi oleh *Lactobacillus sp.* mampu menyimpan fosfat intraseluler untuk menyerang jalannya keseimbangan remineralisasi dari enamel. *Lactobacillus sp.* potensial untuk menyebabkan lesi karies yang dalam, karena pada daerah tersebut tingkat keasamannya cukup tinggi dan merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan dan perkembangannya (Kusumaningsih, 1999:173).

### 2.3 Bahan Antimikroba

Bahan antimikroba yang ideal memperlihatkan toksitas selektif. Istilah ini berarti bahwa bahan ini merugikan parasit tanpa merugikan inang. Dalam banyak hal, toksitas selektif lebih bersifat relatif daripada absolut, berarti bahwa suatu bahan dapat merusak parasit dalam konsentrasi yang dapat ditoleransi oleh inang (Katzung, 1997:699).

Mekanisme kerja bahan antimikroba adalah:

#### 1. Mengganggu metabolisme sel mikroba

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya apabila sulfonamid atau sulphon menang bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya, kehidupan mikroba akan terganggu (Ganiswarna, 1995:572).

#### 2. Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Berbeda dengan sel binatang, bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku, dinding sel, yang mengelilingi secara lengkap sitoplasma membran sel. Bakteri mempertahankan bentuk mikroorganisme dan “korset” sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang sangat tinggi. Pada dinding bakteri Gram negatif, bagian luar dinding sel adalah lapisan lipid yang disebut membran luar. Tekanan internal adalah tiga sampai lima kali lebih besar pada Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif. Perusakan terhadap dinding sel (misalnya

oleh lisosim) atau penghambatan pembentukannya dapat menimbulkan lisisnya sel ini. Pada lingkungan hipertonik (misalnya sukrosa 20%), gangguan sintesis dinding sel memungkinkan pembentukan protoplas bakteri yang bulat dari organisme Gram positif atau sferoplas dari organisme Gram negatif yang rapuh. Jika sel fleksibel ini ditempatkan di lingkungan dengan toksitas yang biasa, maka mereka cepat mengambil cairan dan dapat meletus (Katzung, 1997:699).

### 3. Menghambat fungsi membran mikroba

Sitoplasma semua sel hidup diliputi oleh membran sitoplasma, yang bertindak sebagai sawar selektif permeabilitas, melakukan fungsi transpor aktif dan mengontrol komposisi dalam sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma rusak, makro molekul dan ion lolos dari sel, kemudian sel akan mengalami kematian (Katzung, 1997:702).

### 4. Menghambat sintesis protein

Bakteri mempunyai ribosom 70S, sedangkan sel mamalia mempunyai ribosom 80S. Subunit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimiawinya, dan spesivitas fungsionalnya cukup berbeda untuk menerangkan mengapa antimikroba dapat menghambat sintesis protein di dalam ribosom bakteri tanpa menunjukkan efek nyata pada ribosom mamalia. Dalam sintesis protein mikroba normal, pesan mRNA secara bersamaan dibaca oleh beberapa ribosom yang memanjang sepanjang pita mRNA. Pita ini dinamakan polisom. Tahap pertama adalah pelekatan aminoglikosida ke protein reseptor spesifik pada subunit 30S dari ribosom 70S mikroba. Kedua, aminoglikosida menghambat aktivitas normal permulaan pembentukan kompleks peptida (mRNA + formil metionin + tRNA). Ketiga, pesan mRNA salah dibaca pada daerah pengenalan ribosom, dan sebagai akibatnya, asam amino yang salah dimasukkan dalam peptida ini, yang menghasilkan protein yang tidak fungsional. Keempat, pelekatan aminoglikosida mengakibatkan pecahnya polisom dan pecahnya menjadi monosom yang tidak dapat mensintesis protein. Aktivitas tersebut terjadi kurang lebih secara

bersamaan, dan biasanya efek keseluruhan merupakan kejadian yang tidak reversibel atau pembunuhan sel tersebut (Katzung, 1997:702 -703).

##### 5. Menghambat sintesis asam nukleat

Kebanyakan mikroorganisme, asam p-aminobenzoat (PABA) merupakan metabolit penting. PABA digunakan oleh mikroorganisme sebagai suatu prekursor dalam sintesis asam folat dalam jalur yang digunakan pada sintesis asam nukleat. Cara kerja PABA yang spesifik mungkin melibatkan kondensasi pteridin dengan PABA yang bergantung pada adenosine trifosfat (ATP) untuk menghasilkan asam folat. Sulfonamid merupakan analog struktur PABA dan menghambat dihidropteroat sintetase. Sulfonamid dapat masuk kedalam reaksi menggantikan PABA pada bakteri yang rentan dan berkompetisi untuk pusat aktif enzim. Sebagai hasilnya, analog asam folat yang tidak fungsional dibentuk, mencegah pertumbuhan bakteri lebih lanjut (Katzung, 1997:705).

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris, yaitu suatu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol dan dilakukan di dalam laboratorium (Nazir, 1988:74).

### **3.2 Waktu Penelitian dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan November 2006 sampai dengan Februari 2007 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Gigi Universitas Jember (FKG UNEJ).

### **3.3 Variabel Penelitian**

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perasan daun belimbing wuluh konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*

#### **3.3.3 Variabel Kendali**

- Variabel kendali dalam penelitian ini adalah :
- a. suhu inkubator
  - b. lama inkubasi

### **3.4 Definisi Operasional Variabel**

- 3.4.1 Perasan Daun Belimbing Wuluh Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%

Perasan daun belimbing wuluh adalah daun belimbing wuluh yang masih muda dan segar dicuci bersih lalu dipotong kecil-kecil dan ditumbuk dalam mortal dengan pastel sampai halus. Kemudian diperas dengan kain kasa steril dan ditampung dalam gelas ukur dan dilakukan pengenceran berseri menjadi konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.

- 3.4.2 Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus sp.*

Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.* adalah pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.* pada permukaan atau di dalam media padat yang ditandai dengan koloni berbentuk bulat atau oval dengan tepian seperti wol dan berwarna putih susu (Efendi dan Suryadi, 2004:78)

### **3.5 Sampel Penelitian**

- 3.5.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

(Steel dan Torrie, 1995:24).

Jadi besar sampel berdasarkan rumus diatas adalah sebesar 10 sampel untuk masing-masing kelompok sesuai dengan perhitungan pada lampiran A.

### **3.5.2 Kriteria Sampel**

Kriteria sampel dalam penelitian ini adalah :

- a. daun belimbing wuluh langsung diambil dari pohon (segar) dan masih muda (berwana hijau muda)
- b. diambil 1-3 cabang dari pucuk batang
- c. masing-masing cabang diambil kurang lebih 2/3 bagian daun dari pucuknya

### **3.5.3 Pengelompokan Sampel**

Sampel penelitian dibagi dalam 7 (tujuh) kelompok, yaitu :

- a. tabung reaksi A : kontrol negatif (aquades)
- b. tabung reaksi B :kontrol positif (obat kumur Betadine)
- c. tabung reaksi C1 :perasan daun belimbing wuluh 100%
- d. tabung reaksi C2 :perasan daun belimbing wuluh 50%
- e. tabung reaksi C3 :perasan daun belimbing wuluh 25%
- f. tabung reaksi C4 :perasan daun belimbing wuluh 12,5%
- g. tabung reaksi C5 :perasan daun belimbing wuluh 6,25%

## **3.6 Alat-alat dan Bahan-bahan Penelitian**

### **3.6.1 Alat-alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. *petridish*
- b. *disposable syringe* (*Terumo, Japan*)
- c. *laminar flow cabinet* (*Suzhou Antai Air Tech Co. LTD type HF 100, China*)
- d. *gigaskrin*
- e. *autoclave* (*Smic, Korea*)
- f. *oven* (*Memert, Germany*)
- g. tabung reaksi (*Pyrex, Japan*)
- h. *colony counter* (*Bacterial Counter, Taiwan*)
- i. *desikator* (*Duran, Germany*)

- j. inkubator (*Binder, USA*)
- k. neraca (*Ohauss, Germany*)
- l. gelas ukur
- m. *thermolyne* (*Maxi Mix II, USA*)
- n. mortal dan pastle (*Pyrex, Japan*)
- o. tabung erlenmayer
- p. kompor (*Maspion, Indonesia*)
- q. termometer
- r. gunting
- s. pengaduk
- t. ose

### 3.6.2 Bahan-bahan penelitian

Bahan-bahan yang diperlukan adalah:

- a. bubuk MRS-B (De Mann Rogosa and Sharpe-Broth, Merck, *Germany*)
- b. bubuk MRS-A (De Mann Rogosa and Sharpe-Agar, Merck, *Germany*)
- c. aquades steril
- d. obat kumur Betadine (PT. Mahakam Beta Farma, Jakarta - Indonesia)
- e. kain kasa steril (PT. Hexa Husada, Pekalongan – Indonesia)
- f. lilin
- g. kultur murni bakteri *Lactobacillus sp* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (FK UNAIR, Surabaya – Indonesia)

- h. perasan daun belimbing wuluh

## 3.7 Prosedur Penelitian

### 3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Mensterilkan alat

Semua alat dicuci bersih dan disterilkan dalam oven selama 20 menit pada suhu  $110^{\circ}\text{C}$ .

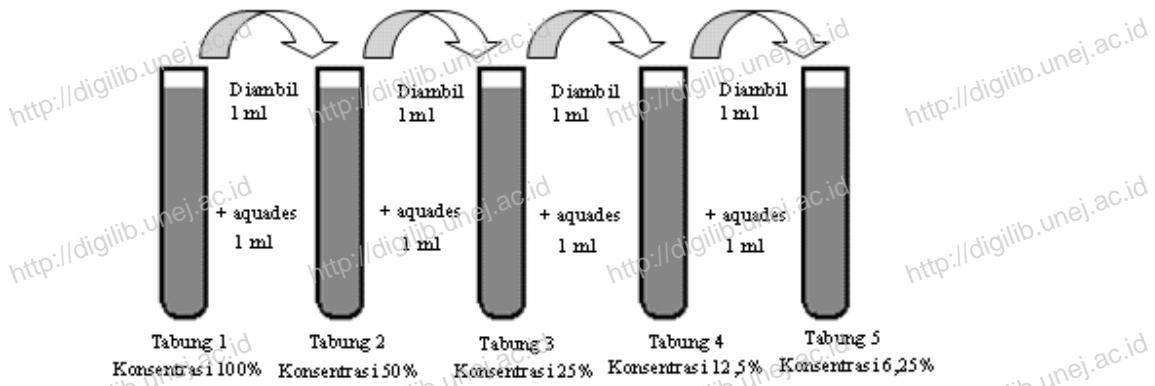
b. Membuat perasan daun belimbing wuluh

Daun belimbing wuluh yang masih muda dan segar ditimbang dengan neraca, diambil sebanyak 100 gram kemudian dicuci bersih lalu dipotong kecil-kecil dengan gunting yang sudah dicuci bersih dan ditumbuk dalam mortal dengan pastle sampai halus. Kemudian diperas dengan kain kasa steril dan ditampung dalam gelas ukur.

c. Membuat konsentrasi perasan daun belimbing wuluh

Cara membuat konsentrasi perasan daun belimbing wuluh adalah sebagai berikut :

- 1) disiapkan 5 tabung reaksi, tabung reaksi 2,3,4 dan 5 diisi aquades steril sebanyak 1 ml.
- 2) tabung reaksi 1 diisi dengan perasan daun belimbing wuluh 2 ml (konsentrasi 100%)
- 3) diambil 1 ml dari tabung reaksi 1 dengan *syringe* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2 kemudian divibrasi dengan *thermolyne* (konsentrasi 50%)
- 4) diambil 1 ml dari tabung reaksi 2 dengan *syringe* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3 kemudian divibrasi dengan *thermolyne* (konsentrasi 25%)
- 5) diambil 1 ml dari tabung reaksi 3 dengan *syringe* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 4 kemudian divibrasi dengan *thermolyne* (konsentrasi 12,5%)
- 6) diambil 1 ml dari tabung reaksi 4 dengan *syringe* kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi 5 kemudian divibrasi dengan *thermolyne* (konsentrasi 6,25%) seperti pada gambar 3.1.
- 7) diambil 1 ml dari tabung reaksi 5 dan dibuang.



Gambar 3.1 Cara pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi perasan daun belimbing wuluh 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%

d. Membuat media pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* sp.

1) Persiapan pembuatan media MRS-B

sebanyak 5,52 gram bubuk MRS-B (ditimbang dengan neraca) dan aquades steril sebanyak 100 ml dimasukkan dalam tabung *erlenmayer*, kemudian diaduk dengan pengaduk dan dipanaskan dengan kompor sampai mendidih. Setelah itu disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Untuk meyakinkan bahwa media cair (MRS-B) dalam keadaan steril, maka media tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

2) Persiapan pembuatan media MRS-A

Sebanyak 5,79 gram bubuk media MRS-A (ditimbang dengan neraca) dan 100 ml aquades steril dimasukkan ke dalam tabung *erlenmayer*, kemudian diaduk dengan pengaduk dan dipanaskan dengan kompor sampai mendidih. Setelah itu disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Siapkan *petridish* yang sudah steril dan tuangkan MRS-A (dalam keadaan cair) ke dalam *petridish* sebanyak 25 ml pada suhu 45° - 50° C (diukur dengan termometer) dan dinginkan sampai menjadi padat (Capuccino, 1983:36-37; Alcamo, 1983:34). Jika sudah padat, *petridish* dibalik dan dimasukkan ke

dalam inkubator dengan suhu  $37^0$  C selama 24 jam. Hal ini dilakukan untuk meyakinkan bahwa media MRS-A dalam keadaan steril.

e. Membuat suspensi bakteri *Lactobacillus sp.*.

Kultur murni bakteri *Lactobacillus sp.* diambil 1 ose kemudian diinokulasikan dalam tabung reaksi yang berisi media MRS-B sebanyak 4 ml. Selanjutnya tabung reaksi dimasukkan ke dalam desikator dengan cara sebagai berikut :

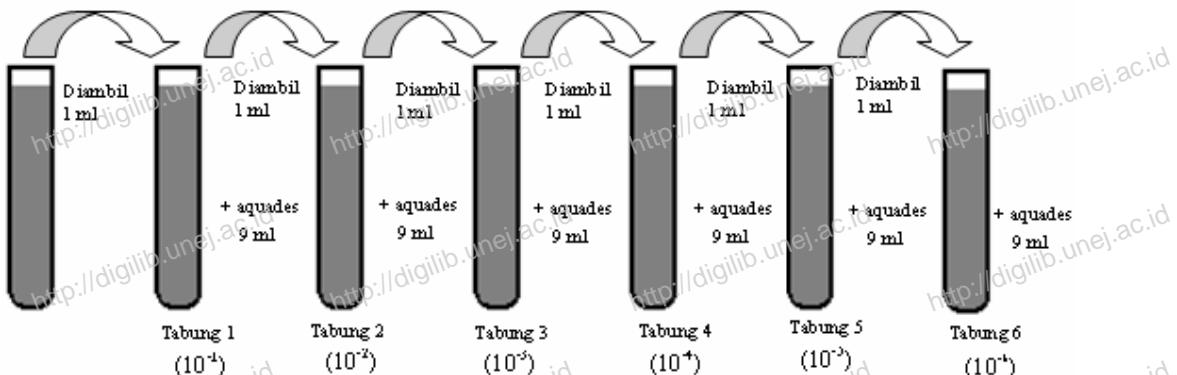
- a. lilin di dalam desikator dinyalakan,
- b. tabung reaksi dimasukkan ke dalam desikator,
- c. desikator ditutup dengan penutupnya dan ditunggu sampai lilin mati (tidak ada oksigen).

Kemudian desikator dimasukkan dalam inkubator dan diinkubasi dengan suhu  $37^0$  selama 48 jam.

### 3.7.2 Tahap Perlakuan

- a. Siapkan 7 tabung reaksi yang diberi label A, B, C1, C2, C3, C4, C5 dan masing-masing telah diisi 0,5 ml media MRS-B.
  - 1) tabung A ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan aquades 0,5 ml
  - 2) tabung B ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan obat kumur Betadine 0,5 ml
  - 3) tabung C1 ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan perasan daun belimbing wuluh 100% 0,5 ml
  - 4) tabung C2 ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan perasan daun belimbing wuluh 50% 0,5 ml
  - 5) tabung C3 ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan perasan daun belimbing wuluh 25% 0,5 ml
  - 6) tabung C4 ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan perasan daun belimbing wuluh 12,5% 0,5 ml
  - 7) tabung C5 ditambah 0,5ml *Lactobacillus sp.* dan perasan daun belimbing wuluh 6,25% 0,5 ml

- b. Tabung A, B, C1, C2, C3, C4 dan C5 divibrasi dengan *thermolyne*, selanjutnya masing-masing tabung dilakukan pengenceran  $10^{-6}$  (pengenceran efektif yang dapat dibaca pada *colony counter* berdasarkan hasil penelitian pendahuluan) dengan cara sebagai berikut:
- 1) diambil 1 ml dari tabung yang akan diencerkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung 1 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-1}$ )
  - 2) diambil 1 ml dari tabung 1 kemudian dimasukkan ke dalam tabung 2 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-2}$ )
  - 3) diambil 1 ml dari tabung 2 kemudian dimasukkan ke dalam tabung 3 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-3}$ )
  - 4) diambil 1 ml dari tabung 3 kemudian dimasukkan ke dalam tabung 4 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-4}$ )
  - 5) diambil 1 ml dari tabung 4 kemudian dimasukkan ke dalam tabung 5 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-5}$ )
  - 6) diambil 1 ml dari tabung 5 kemudian dimasukkan ke dalam tabung 6 yang berisi 9 ml aquades (pengenceran  $10^{-6}$ ) (Alcamo, 1983:19).



Gambar 3.2 Cara untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-6}$

- c. Hasil dari pengenceran masing-masing kelompok kemudian diinokulasikan pada media lempeng MRS-A dengan cara sebagai berikut :
  1. diambil 1 ml dari masing-masing tabung reaksi dengan *syringe*
  2. kemudian diteteskan pada *petridish* yang berisi media padat MRS-A sesuai dengan kelompoknya dan diberi kode 1 sampai 10 untuk masing-masing kelompok
  3. lalu diratakan dengan gigaskrin.
- d. *Petridish* dibalik, kemudian dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C. Seluruh tahap pada prosedur penelitian dilakukan di dalam *laminar flow cabinet*.

### 3.7.3 Tahap Pengamatan

Setelah 48 jam, dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri *Lactobacillus sp.* dengan *colony counter*. Caranya dengan meletakkan *petridish* secara terbalik, kemudian pada *colony counter* tampak kotak-kotak kuadran yang terdiri dari 64 kotak. Tiap-tiap koloni bakteri dihitung pada kotak-kotak tanpa arsiran yang dipilih sebanyak 30 kotak secara acak dari keempat kuadran. Tiap kuadran diambil sebanyak 7 sampai 8 kotak secara merata dan dihitung sebanyak 3 kali lalu diambil rata-ratanya (Alcamo, 1983:73).

			7	8		
		3	4	5	6	
	3		1	2		3
7	4	1			1	4
5	2				2	5
6		1	2			6
		3	4	5	6	
			7	8		

Gambar 3.3 Penghitungan koloni bakteri pada *colony counter* (Frobisher, 1962:211)

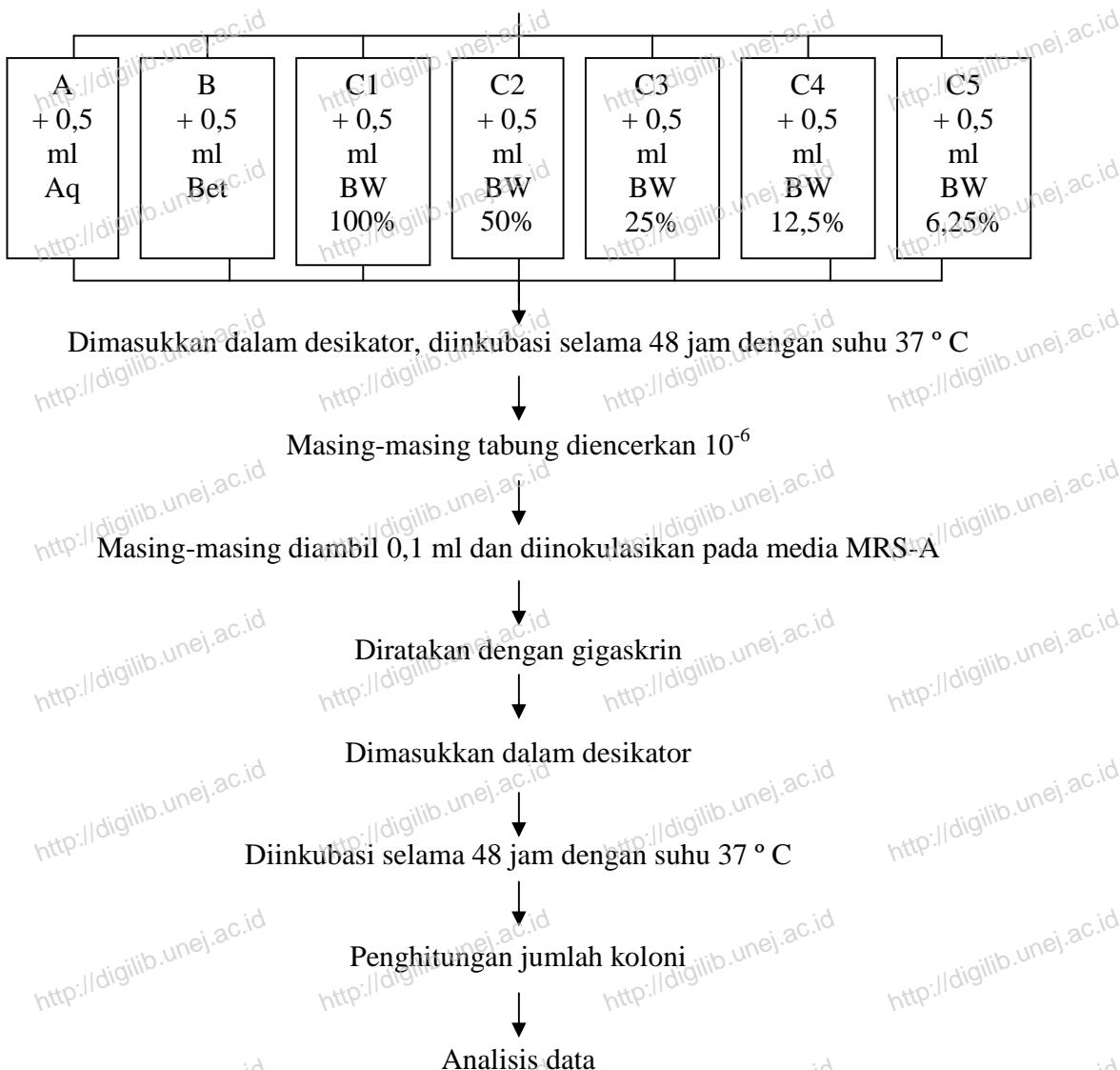
### 3.8 Analisis Data

Data dari hasil penelitian dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis ( $p \leq 0,05$ ) dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney dengan tingkat kemaknaan 5 % ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.9 Alur Penelitian

Tujuh tabung reaksi (A, B, C1, C2, C3, C4, C5) yang masing-masing berisi 0,5 ml

MRS-B + 0,5 ml suspensi *Lactobacillus sp.*



#### Keterangan

Aq : aquades

Bet : obat kumur Betadine

BW : perasan daun belimbing wuluh

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data mengenai kemampuan perasan daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*, berupa hasil penghitungan jumlah koloni bakteri yang dapat dilihat pada tabel 4.1 di bawah ini,

Tabel 4.1 Hasil penghitungan jumlah koloni bakteri *Lactobacillus sp.* dengan *colony counter* dalam CFU (*Colony Forming Unit*)

Kode Sampel	Kelompok Perlakuan						
	A	B	C1	C2	C3	C4	C5
1	210	0	0	75	115	162	187
2	209	0	0	99	111	167	192
3	208	0	0	87	112	157	188
4	211	0	0	89	108	153	194
5	219	0	0	81	107	158	189
6	217	0	0	77	113	161	199
7	207	0	0	78	105	152	185
8	213	0	0	90	103	151	181
9	214	0	0	92	100	149	190
10	206	0	0	96	116	150	182
Jumlah	2.114	0	0	864	1.090	1.566	1.887
Rata-rata	211,4	0	0	86,4	109,0	156,6	188,7
St Dev	4,2	0	0	8,3	5,3	5,7	5,5

A : kontrol negatif (aquadex)

B : kontrol positif (Betadine)

C1 : perasan daun belimbing wuluh 100%

C2 : perasan daun belimbing wuluh 50%

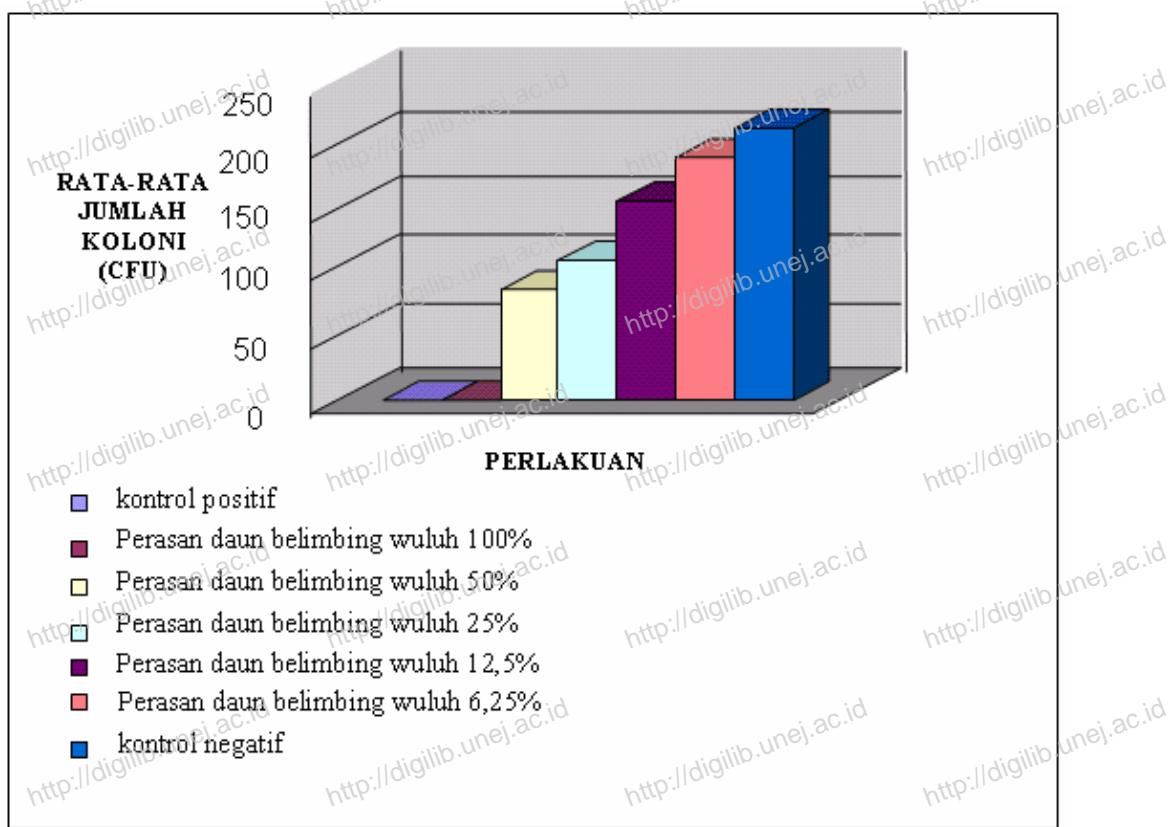
C3 : perasan daun belimbing wuluh 25%

C4 : perasan daun belimbing wuluh 12,5%

C5 : perasan daun belimbing wuluh 6,25%

St Dev : standart deviasi

Rata-rata jumlah koloni setiap kelompok secara jelas dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Diagram batang dari rata-rata jumlah koloni bakteri *Lactobacillus sp.*

Analisis data didahului uji normalitas untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal yang dilanjutkan dengan uji homogenitas varian untuk mengetahui berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi tersebut sama.

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
	Statistic	df	Sig.
Jumlah koloni	.198	70	.000

Hasil uji normalitas Kolmogorof Smirnov mununjukkan nilai kemaknaan  $p = 0,000$  (tabel 4.2) karena  $p < 0,05$  maka diambil kesimpulan bahwa variabel jumlah koloni memiliki sebaran tidak normal. Selanjutnya, dilakukan transformasi data untuk menormalkan sebaran data.

Tabel 4.3 Hasil uji normalitas setelah dilakukan transformasi data

Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			
	Statistic	df	Sig.
Tran_koloni	.157	50	.004

Setelah dilakukan transformasi data, hasil uji normalitas tetap memperoleh  $p < 0,05$  (tabel 4.3). Karena syarat sebaran data harus normal tidak terpenuhi, maka uji analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Tabel 4.4 Hasil uji Kruskal-Wallis

Jumlah koloni	
Chi-Square	67.982
df	6
Asymp. Sig.	.000

Hasil uji Kruskal-Wallis mendapatkan nilai  $p = 0,000$  (tabel 4.4). Oleh karena nilai  $p < 0,05$  hal ini berarti terdapat perbedaan bermakna jumlah koloni dari masing-masing kelompok. Kemudian untuk mengetahui kemaknaan perbedaan antar kelompok, maka analisis statistik dilanjutkan dengan uji Mann Whitney (tabel 4.5).

Tabel 4.5 Hasil uji Mann Whitney

	kontrol negatif	kontrol positif	100%	50%	25%	12,5%	6,25%
kontrol negatif	-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
kontrol positif	0.000	-	-	0.000	0.000	0.000	0.000
100%	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	0.000
50%	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000
25%	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000
12,5%	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-	0.000
6,25%	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	-

Hasil uji Mann Whitney menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara perasan daun belimbing wuluh 100% dengan perasan daun belimbing wuluh 50%; 25%; 12,5%; 6,25% dan kontrol negatif. Perasan daun belimbing wuluh 50% memiliki perbedaan yang bermakna dengan perasan daun belimbing wuluh 100%; 25%; 12,5%; 6,25%, kontrol positif dan kontrol negatif. Perasan daun belimbing wuluh 25% memiliki perbedaan yang bermakna dengan perasan daun belimbing wuluh 100%; 50%; 12,5%; 6,25%; kontrol positif dan kontrol negatif. Perasan daun belimbing wuluh 12,5% memiliki perbedaan yang bermakna dengan perasan daun belimbing wuluh 100%; 50%; 25%; 6,25%; kontrol positif dan kontrol negatif. Perasan daun belimbing wuluh 6,25% memiliki perbedaan yang bermakna dengan perasan daun belimbing wuluh 100%; 50%; 25%; 12,5%, kontrol positif dan kontrol negatif. Pada perasan daun belimbing wuluh 100% dan kontrol positif tidak dapat ditentukan kemaknaannya karena tidak terdapat variasi pada data.

## 4.2 Pembahasan

Penelitian eksperimental laboratoris ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan perasan daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri

*Lactobacillus* sp. Daya hambat ini dapat diketahui dengan menghitung jumlah koloni bakteri *Lactobacillus* sp.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perasan daun belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* sp. baik pada konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5% maupun 6,25%. Semakin tinggi konsentrasi perasan daun belimbing wuluh didapatkan jumlah koloni *Lactobacillus* sp. semakin sedikit, yang artinya bahwa semakin tinggi konsentrasi perasan daun belimbing wuluh, maka semakin besar kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* sp. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan dalam larutan maka semakin besar efek yang dihasilkan (Anief, 1994:71).

Pada daun belimbing wuluh terdapat senyawa yang diperkirakan bersifat antibakteri yaitu asam format, tanin, sulfur dan peroksidase. Asam format merupakan desinfektan yang efektif untuk bakteri vegetatif, jamur dan banyak jenis virus. Aksi dari asam format adalah bereaksi dengan protein sehingga dapat mengganggu kerjanya. Efektifitas kerja antimikroba dari asam format meningkat dengan adanya penambahan temperatur. Asam format memiliki kemampuan penetrasi yang kecil dan langsung mengadakan polimerisasi dan kondensasi di permukaan (Martindale, 1982:536).

Tanin merupakan senyawa yang mengandung efek antibakteri. Efek fisiologis dan efek farmakologis tanin disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks, baik dengan protein maupun polisakarida. Pembentukan kompleks itu berdasarkan pada pembentukan ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik antara tanin dengan protein (Mahtuti dan Yohani, 2006:[www.digilib.unair.ac.id](http://www.digilib.unair.ac.id) [16 Juni 2006]). Pada sel mikroba, untuk kehidupannya perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Jika senyawa antibakteri berikatan dengan komponen ribosom akan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Akibatnya

akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri (Katzung, 1997: 573)

Kemampuan antimikroba dari senyawa tanin berdasarkan pada kemampuan senyawa ini menghambat kerja enzim tertentu secara selektif atau kemampuannya dalam menghambat ikatan antar ligan dengan suatu reseptor. Selain itu, mungkin berhubungan dengan kemampuan tanin untuk menginaktivasi adhesin mikroba, enzim, dan transpor protein pada dinding sel (Mahtuti dan Yohani, 2006:[www.digilib.unair.ac.id](http://www.digilib.unair.ac.id) [16 Juni 2006]). Dinding sel bakteri berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat terlarut dan menahan zat lainnya. Beberapa zat diangkat secara aktif melalui dinding sel. Dinding sel juga merupakan tempat bagi banyak enzim yang terlibat dalam biosintesis berbagai komponen pembungkus sel. Zat-zat yang terkonsentrasi pada permukaan sel mungkin mengubah sifat-sifat fisik dan kimiawi dinding serta menghalangi fungsi normalnya sehingga dapat menyebabkan lisisnya sel tersebut (Jawetz, 1996 : 54 ; Katzung, 1997: 572).

Pada penelitian ini digunakan obat kumur Betadine sebagai kontrol positif karena obat kumur ini diketahui mempunyai daya bunuh yang cepat dan membunuh kuman dengan spektrum luas (Lukmanto, 1986:337). Obat kumur Betadine mengandung bahan aktif povidone atau povidone iodine 1% w/v (Lukmanto, 1986:366). Povidone iodine termasuk antiseptik golongan halogen dan merupakan zat antibakteri lokal yang efektif, mampu mendenaturasi protein, membunuh tidak hanya bentuk vegetatif tetapi juga spora (Katzung, 1997:779). Menurut Ganiswarna (1995:519) aksi povidone iodine didasarkan pada kemampuannya untuk melepas yodium sehingga dapat bekerja sebagai antiseptik berspektrum luas. Perasan daun belimbing wuluh 100% dan kontrol positif (obat kumur Betadine) mempunyai kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.* Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya koloni pada media yang diberi perasan daun belimbing wuluh 100% dan obat kumur Betadine.

Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan aquades karena bahan ini tidak memiliki daya antibakteri. Bila dibandingkan dengan perasan daun belimbing

wuluh 6,25% ternyata terdapat perbedaan bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa perasan daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 6,25% masih memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Kesimpulan dari penelitian adalah perasan daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp.*

### **5.2 Saran**

1. Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan dari perasan daun belimbing wuluh yang mempunyai daya antibakteri.
2. Dilakukan uji klinis tentang khasiat antibakteri perasan daun belimbing wuluh, sehingga dapat dijadikan alternatif sebagai obat kumur.
3. Jika digunakan sebagai obat kumur, perlu dilakukan pengenceran dari perasan daun belimbing wuluh karena rasanya yang asam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo, E. 1983. *Laboratory Fundamental of Microbiology*. USA: Addison Wesley Publishing Company, Inc.
- Anief, M. 1994. *Farmasetika*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- BPPT. 2002. *Belimbang Asam*. [online]. [www.iptek.net.id/ind/cakra\\_obat/tanaman\\_obat](http://www.iptek.net.id/ind/cakra_obat/tanaman_obat) [14 Oktober 2005].
- Cappuccino, J.G. 1983. *Microbiology a Laboratory Manual*. New York: Addison-Wesley Publishing Company, Inc.
- Depkes RI. 1999. *Upaya Kesehatan Gigi Masyarakat (UKGM)*. Jakarta: Direktorat Jendral Pelayanan Medik.
- Dwidjoseputro, D. 1994. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Eccles, J.D. dan Green, R.M. 1994. *Konservasi Gigi, Edisi ke-2*. Alih bahasa : Lilian Yuwono. Judul asli “*The Conservation of Teeth*”. Jakarta: Widya Medika.
- Efendi, I dan Suryadi, E. 2004. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (Ephinephelus fuscoguttatus) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan*. dalam Jurnal Natur Indonesia, Edisi ke-6 vol. 2. Pekanbaru: Universitas Riau.
- Frobisher, M. 1962. *Fundamentals of Microbiology, 7<sup>th</sup> Edition*. London: W.B. Saunders Company
- Ganiswarna, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi, Edisi ke- 4*. Jakarta: FKUI.
- Gupte, S. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Alih bahasa : Julius E.S. Judul asli “*Fundamentals of Microbiology*” Jakarta: Binarupa Aksara.
- Hariana, A. 2005. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Hart, T dan Shears, P. 1997. *Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran*. Alih bahasa : Ferdian Endrawan dan Poppy Kumala. Judul asli “*Color Atlas of Medical Microbiology*”. Jakarta:Hipokrates

- Jawetz dkk. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran, Edisi ke-20*. Alih bahasa : Edi N dan RF Maulany. Judul asli “*Medical Microbiology*”. Jakarta: EGC.
- Katzung, B.G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik, Edisi ke-6* Alih bahasa : Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran UNSRI. Judul asli “*Basic and Clinical Pharmacology*”. Jakarta: EGC.
- Kartasapoetra. 1996. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: Rineka Cipta
- Kusumaningsih, T. 1999. *Hubungan antara Indeks Keparahan Karies dengan Jumlah Lactobacillus sp. di dalam Saliva Anak Taman Kanak-kanak*. Dalam Majalah Kedokteran Gigi no. 4. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Lingga, P. 1987. *Bertanam Belimbing*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lukmanto, H. 1986. *IPI (Informasi Akurat Produksi Farmasi di Indonesia)*. Jakarta: EGC
- Mahtuti dan Yohani, E. 2006. *Pengaruh Daya Antimikroba Asam Tanat terhadap Pertumbuhan Bakteri Salmonella typhi secara In vitro*. Dalam Master Theses Unair <http://www.digilib.unair.ac.id/go> [16 Juni 2006].
- Mansjoer, A. 1999. *Kapita Selekta Kedokteran*. Jakarta: Media Aesculapius.
- Martindale. 1982. *The Extra Pharmacopeia, 28<sup>th</sup> Edition*. London: Pharmaceutical Press.
- Maryani, H. 2002. *Mengatasi Penyakit Anak dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Orientasari, V. 2001. *Pengaruh Perasan Daun dan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans**. Karya Tulis Ilmiah (Skripsi). Jember: FKG Universitas Jember.
- Santoso, D dan Gunawan, D. 1999. *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Kulit*. Yogyakarta: Penebar swadaya.
- Sarwono, B. 2001. *Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

Schlegel, H.G dan Schmidt, K. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Alih bahasa : Tedjo Baskoro. Judul asli “*Common of Microbiology*”. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Smith, D dan Conant, F. 1960. *Microbiology*. New York: Appleton Century Crofts.

Steel, G.D dan Torrie H. 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*, Edisi ke-2. Alih Bahasa Bambang Sumantri. Judul asli “*Principles and Procedures of Statistics*”. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

## RUMUS BESAR SAMPEL

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

(Steel dan Torrie, 1995:24).

Keterangan :

n : besar sampel minimal

Z $\alpha$  : batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (1,96)

Z $\beta$  : batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas kemaknaan (0,85)

$\sigma^2$  : diasumsikan  $\sigma^2 = \delta^2$

$\alpha$  : tingkat signifikan (0,05)

$\beta$  : 0,20

Hasil penghitungan besar sampelnya adalah :

$$n = \frac{(1,96 + 0,85)^2 \delta^2}{\delta^2}$$

$$n = (2,82)^2$$

$$n = 7,896$$

$$n = 8$$

karena ingin mencari perbedaan, maka hanya ada 8 derajat bebas bagi galat.

Faktor penggandanya menjadi  $10 / 8 = 1,25$

$$n = 7,9 (1,25) = 9,9 \text{ (disesuaikan)}$$

$$n = 10$$

## **ANALISIS DATA**

### **1. JUMLAH KOLONI**

**Descriptives**

		Statistic	Std. Error
JUMLAH KOLONI	Mean	107.4429	9.49224
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound 88.5064 Upper Bound 126.3793	
	5% Trimmed Mean	107.3730	
	Median	109.5000	
	Variance	6307.178	
	Std. Deviation	79.41774	
	Minimum	.00	
	Maximum	219.00	
	Range	219.00	
	Interquartile Range	185.50	
	Skewness	-.208	.287
	Kurtosis	-1.403	.566

### **2. UJI NORMALITAS**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
JUMLAH KOLONI	.198	70	.000	.871	70	.000

a Lilliefors Significance Correction

### 3. UJI NORMALITAS HASIL TRANSFORMASI

**Descriptives**

		Statistic	Std. Error
tran_koloni	Mean	2.1534	.02118
	95% Confidence Interval for Mean	2.1108 2.1959	
	5% Trimmed Mean	2.1582	
	Median	2.1959	
	Variance	.022	
	Std. Deviation	.14976	
	Minimum	1.88	
	Maximum	2.34	
	Range	.47	
	Interquartile Range	.27	
	Skewness	-.389	.337
	Kurtosis	-1.317	.662

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
tran_koloni	.157	50	.004	.897	50	.000

a Lilliefors Significance Correction

#### **4. MANN-WHITNEY TEST**

##### **• KONTROL POSITIF**

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	1	10	5.50	55.00
	3	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	1	10	5.50	55.00
	4	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	1	10	5.50	55.00
	5	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	1	10	5.50	55.00
	6	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	1	10	5.50	55.00
	7	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

- **BELIMBING WULUH 100%**

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	2	10	5.50	55.00
	3	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	2	10	5.50	55.00
	4	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	2	10	5.50	55.00
	5	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	2	10	5.50	55.00
	6	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	2	10	5.50	55.00
	7	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

- **BELIMBING WULUH 50%**

Ranks					
	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
tran_koloni	3	10	5.50	55.00	
	4	10	15.50		155.00
	Total	20			

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

Ranks					
	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks	
tran_koloni	3	10	5.50	55.00	
	5	10	15.50		155.00
	Total	20			

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	3	10	5.50	55.00
	6	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	3	10	5.50	55.00
	7	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

- **BELIMBING WULUH 25%**

Ranks				
	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	4	10	5.50	55.00
	5	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

Ranks				
	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	4	10	5.50	55.00
	6	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	4	10	5.50	55.00
	7	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

- **BELIMBING WULUH 12,5%**

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	5	10	5.50	55.00
	6	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	5	10	5.50	55.00
	7	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

- **BELIMBING WULUH 6,25%**

**Ranks**

	macam perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
tran_koloni	6	10	5.50	55.00
	7	10	15.50	155.00
	Total	20		

**Test Statistics(b)**

	tran_koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	55.000
Z	-3.781
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: macam perlakuan

## FOTO ALAT DAN BAHAN PENELITIAN

### 1. ALAT PENELITIAN



#### Keterangan:

- |                       |                       |
|-----------------------|-----------------------|
| 1. Petridish          | 7. Desikator          |
| 2. Disposable syringe | 8. Neraca             |
| 3. Pengaduk           | 9. Gelas ukur         |
| 4. Gigaskrin          | 10. Colony counter    |
| 5. Tabung reaksi      | 11. Mortal dan pastle |
| 6. Thermolyne         | 12. Tabung Erlenmeyer |



1. Autoclave

2. Laminar flow cabinet



3. Oven

4. Inkubator

## **2. BAHAN PENELITIAN**



### **Keterangan :**

- 1. Bubuk MRS-A**
- 2. Bubuk MRS-B**
- 3. Aquades steril**
- 4. Obat kumur Betadine**
- 5. Kasa steril**
- 6. Daun belimbing wuluh**

## **FOTO HASIL PENELITIAN**

Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus sp.* pada kelompok A (kontrol negatif)



Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus sp.* pada kelompok B (kontrol positif)



**Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus* sp. pada kelompok C1  
(perasan daun belimbing wuluh 100%)**



**Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus* sp. pada kelompok C2  
(perasan daun belimbing wuluh 50%)**



**Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus* sp. pada kelompok C3  
(perasan daun belimbing wuluh 25%)**



**Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus* sp. pada kelompok C4  
(perasan daun belimbing wuluh 12,5%)**



**Pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus* sp. pada kelompok C5**

(perasan daun belimbing wuluh 6,25%)

