

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF BELIMBING BOTOL LEAF EXTRACT (*Averrhoa bilimbi* L.) AGAINST THE GROWTH OF *Propionibacterium acne*, AN ACNE-CAUSING BACTERIA**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING BOTOL (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Propionibacterium acne* PENYEBAB JERAWAT**

Widya Hana Putri Gerung<sup>1)\*</sup>, Fatimawali<sup>1)</sup>, Irma Antasionasti<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

\*hanaptr89@gmail.com

**ABSTRACT**

*Acne (acne vulgaris)* is an inflammatory condition that commonly occurs on the skin. *Acne* can be caused by the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*, and *Staphylococcus epidermidis*. This study aims to determine the antibacterial activity of belimbing botol leaves against the bacteria *Propionibacterium acne*. Extraction was carried out by maceration using ethanol 95% solvent. Antibacterial activity testing was carried out using the well agar diffusion method. The results of the antibacterial activity test were analyzed using One Way Anova followed Tukey test. Inhibition of the ethanol extract of belimbing botol leaves at 24 hours and 72 hours with the concentrations used in this study were 10% (13.9 mm and 14.3 mm), 20% (17.7 mm and 17.6 mm), 40% (18.3 mm and 18.1 mm), and 60% (22.2 mm and 23.1 mm). The Inhibition zone with very strong antibacterial activity against bacteria *Propionibacterium acne* at intervals of 24 hours and 72 hours is the concentration of 60% (22.2 mm and 23.1 mm).

**Keywords:** Antibacterial activity, Leaves of belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.), *Propionibacterium acne*, Well diffusion method

**ABSTRAK**

Jerawat (*acne vulgaris*) merupakan suatu kondisi inflamasi yang secara umum terjadi pada bagian organ kulit. Jerawat dapat disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas daun belimbing botol sebagai antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acne*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar dengan cara sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisa dengan metode *One Way Anova* dilanjutkan uji Tukey. Daya hambat ekstrak etanol daun belimbing botol pada waktu 24 jam dan 72 jam dengan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian yaitu 10% (13,9 mm dan 14,3 mm), 20% (17,7 mm dan 17,6 mm), 40% (18,3 mm dan 18,1 mm), dan 60% (22,2 mm dan 23,1 mm). Zona hambat yang memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat terhadap bakteri *Propionibacterium acne* pada selang waktu 24 jam dan 72 jam yaitu konsentrasi 60% (22,2 mm dan 23,1 mm).

**Kata kunci:** Aktivitas antibakteri, Daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.), *Propionibacterium acne*, Metode difusi sumuran

## PENDAHULUAN

Wajah yang kurang bersih rentan terhadap gangguan kesehatan, baik yang disebabkan oleh produksi kelenjar minyak berlebihan, faktor hormonal maupun aktivitas sehari-hari. Jerawat biasanya rentan terkena pada usia remaja dan dewasa muda. Meskipun jerawat bukan penyakit infeksi serius namun banyak remaja yang mengalami depresi, kecemasan dan putus asa dikarenakan jerawat yang berpotensi merusak penampilan.

Jerawat dapat disebabkan oleh bakteri *staphylococcus aureus*, *propionibacterium acnes* dan *staphylococcus epidermidis*. *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan mikroba pembentuk nanah yang bertanggung jawab untuk pengembangan berbagai bentuk *acne vulgaris*. *Propionibacterium acne* adalah bakteri gram positif dan merupakan salah satu flora normal pada kulit manusia, rongga mulut, usus besar, konjungtiva dan saluran telinga luar. Bakteri ini mendominasi di daerah folikel sebaceous kulit dan dapat menyebabkan jerawat ketika menginfeksi kulit (Mollerup *et al.*, 2016). Mekanisme terjadinya jerawat adalah bakteri *Propionibacterium acne* merusak *stratum corneum* dan *stratum germinatum* dengan cara mensekresikan *sebum* yang menghancurkan dinding pori. Kondisi ini dapat menyebabkan inflamasi, asam lemak, kelenjar minyak kulit tersumbat dan mengeras (Miratunnisa *et al.*, 2015).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional yaitu belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.). Ekstrak etanol daun belimbing botol memiliki kandungan flavonoid dan tanin yang terdapat dalam daun belimbing berpotensi sebagai antibakteri (Yusriani, 2017).

Berdasarkan penelitian sebelumnya maka peneliti tertarik untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri dari belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan menggunakan metode sumuran (difusi agar) karena lebih mudah untuk mengukur luas zona hambat yang terbentuk akibat isolat yang beraktivitas tidak hanya di permukaan agar tetapi juga sampai ke bawah agar.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2021 sampai bulan Maret 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Program Studi Farmasi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado.

## Alat dan Bahan

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri (*Pyrex*), *blender*, gelas kimia (*Pyrex*), gelas ukur, batang pengaduk, kertas saring, toples, Erlenmeyer (*Pyrex*), bunsen, jarum ose, pipet tetes, *autoklaf*, pinset, *aluminium foil*, jangka sorong, inkubator, kertas label, *Laminar air flow*, spidol, *hot plate*, mikropipet, plastik wrap, ayakan *mesh* dan alat fotografi.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing botol, etanol 95%, aquades, NaCl 0,9%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, BaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, *Nutrient Agar* (NA), biakan bakteri *Propionibacterium acne*, dan Clindamycin 300 mg.

### Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun belimbing botol terhadap bakteri *Propionibacterium acne* dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi sumuran dengan analogi penentuan diameter zona hambat.

### Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diambil dari Kota Bitung, Sulawesi Utara.

### Prosedur Penelitian

#### Persiapan Sampel

Pengambilan daun belimbing botol yang dipilih harus daun yang segar dan sehat. Pada tahap awal sampel daun belimbing botol dikumpulkan, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir sampai bersih kemudian ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang telah kering dibuat serbuk menggunakan *blender*, serbuk yang dihasilkan diayak dengan menggunakan ayakan *mesh* hingga diperoleh serbuk yang halus dan homogen. Hasil yang telah didapatkan dimasukkan kedalam wadah tertutup (Gunawan dan Mulyani, 2004).

### Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak daun belimbing botol dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 95%. Simplisia kering daun belimbing botol ditimbang sebanyak 400g kemudian direndam dengan pelarut etanol 95% sampai simplisia terendam seluruhnya. Wadah maserasi ditutup dan dibiarkan selama 5 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan dan harus terlindungi dari sinar matahari langsung. Hasilnya disaring dengan kertas saring dan diperoleh filtrat dan residu. Remaserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian di oven dan diuapkan sehingga diperoleh ekstrak etanol kental. Ekstrak kental yang telah dihasilkan ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan dalam pengujian.

### Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas dan media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoklaf* pada suhu 121°C selama 15 menit sedangkan untuk kawat ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar menggunakan pembakaran di atas api langsung (Lay, 1994).

### Pembuatan Larutan Kontrol Positif Dan Negatif

Kontrol negatif menggunakan aquades steril. Pembuatan larutan kontrol positif dibuat dari sediaan antibiotik Clindamycin 300 mg. Sebanyak 10 kapsul clindamycin dibuka kemudian ditimbang satu per satu dan dihitung rata-ratanya, kontrol positif diencerkan menggunakan aquades 10 ml dan diperlukan sebanyak 20 mg serbuk clindamycin. Sehingga dihitung penimbangan clindamycin:

$$\frac{20 \text{ mg}}{300 \text{ mg}} \times \text{rata - rata isi 10 kapsul clindamycin}$$

### Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji 10%, 20%, 40%, dan 60% b/v dengan cara ditimbang 0,1 g; 0,2 g; 0,4 g; dan 0,6 g ekstrak daun belimbing botol kemudian masing-masing ditambahkan aquades hingga volume 1 ml.

### Pembuatan Media

#### Media Agar Miring

*Nutrient Agar* ditimbang sebanyak 0,56 g dan dilarutkan ke dalam 20 ml aquades (28g/1000ml) menggunakan erlenmeyer. Selanjutnya dihomogenkan dengan *hot plate* hingga mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan pada 2 tabung reaksi

steril dan kemudian ditutup dengan *aluminium foil*. Media tersebut disterilkan dalam *autoklaf* pada suhu 121°C selama 15 menit, dan dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit hingga media memadat pada kemiringan ± 30°. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri.

### Media Dasar Dan Media Pembenihan

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 4,2 g. Kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer lalu dilarutkan dengan 150 ml aquades (28g/1000ml). Setelah itu media NA dihomogenkan di dalam labu erlenmeyer dan dipanaskan menggunakan *hot plate* selama ±10 menit hingga NA larut. Media yang telah homogen disterilisasi menggunakan *autoklaf* selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah itu media NA ditunggu hingga suhu ± 40-45°C, media NA yang telah dituang ke dalam cawan petri dibiarkan hingga memadat. Media dasar dan media pembenihan digunakan dalam pembuatan media pengujian sebagai lapisan dasar dan lapisan kedua.

### Inokulasi Bakteri Uji

Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

### Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan (*Mc. Farland 0,5*)

Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 9,95 ml dicampurkan dengan larutan BaCl<sub>2</sub>. 2H<sub>2</sub>O 1,175% sebanyak 0,05 ml dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Victor, 1980).

### Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri *Propionibacterium acnes* yaitu dengan cara biakan *Propionibacterium acnes* diambil dengan kawat ose steril, kemudian disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*.

### Pembuatan Media Pengujian

Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan masing-masing 65 ml NA ke dalam 3 cawan petri,

lalu dibiarkan hingga memadat. Setelah memadat, pada permukaan lapisan dasar diletakkan 6 pencadang yang diatur sedemikian rupa jaraknya agar daerah pengamatan tidak saling bertumpu. Selanjutnya suspensi bakteri dicampurkan ke dalam media pembenihan NA. Kemudian, tuangkan 65 ml campuran suspensi dan media pembenihan tersebut ke dalam tiap cawan petri yang diletakkan pencadang sebagai lapisan kedua. Selanjutnya, pencadang diangkat secara aseptik dari cawan petri sehingga akhirnya terbentuklah sumuran yang akan digunakan dalam pengujian antibakteri.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Larutan uji ekstrak etanol daun belimbing botol dengan berbagai konsentrasi (10%, 20%, 40% dan 60%), aquades steril sebagai kontrol negatif, larutan clindamycin sebagai kontrol positif masing-masing diteteskan pada sumur yang berbeda sebanyak 50 µl. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

### Pengamatan Dan Pengukuran

Pengamatan dilakukan setelah 1x24 jam masa inkubasi. Diamati zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran kemudian diukur diameter zona hambat secara horizontal dan vertikal. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong dengan cara diameter keseluruhan dikurangi diameter sumuran 7 mm. Kemudian diameter zona bening tersebut dikategorikan kekuatan daya hambat antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout (1971).

### Analisa Data

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri propionibacterium acne dianalisa secara statistik menggunakan analisa varians satu arah (*One Way Anova*) dan dilanjutkan uji tukey dengan program *Statistical Product Service Solution* (SPSS) dengan taraf kepercayaan 95% atau  $\alpha=0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode secara dingin yaitu maserasi menggunakan 2000 ml pelarut etanol 95%, selama 5 hari sambil sesekali diaduk dan di remaserasi selama 3 hari. Hasil maserasi kemudian disaring

menggunakan kertas saring. Semua maserat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan oven hingga diperoleh ekstrak kental berwarna hijau kehitaman yang akan digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri. Metode maserasi dipilih karena cara pengerjaan yang sederhana, cepat menarik senyawa kimia yang terdapat dalam sampel, peralatan yang digunakan mudah didapat dan tidak memerlukan peralatan khusus (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 95% karena lebih selektif, etanol juga memiliki sifat toksisitas yang rendah sehingga tidak mudah merusak sampel, absorbsinya baik dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur (Saifudin *et al*, 2011).

### Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acne* menggunakan metode difusi sumuran. Metode ini dipilih karena cara pengerjaan yang sederhana, peralatan yang mudah didapat dan tidak memerlukan alat-alat khusus. Pada metode sumuran yaitu membuat lubang pada media agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Kemudian tiap lubang diisi dengan konsentrasi ekstrak yang akan digunakan. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dan pengukuran dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat yang terjadi di sekeliling sumuran (Prayoga, 2013).

Prinsip metode difusi agar yaitu terbentuknya diameter zona hambat disekitaran lubang yang telah diisi dengan larutan uji setelah media agar ditanami bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam, besar atau kecilnya nilai daya hambat dilihat dari daerah jernih yang terbentuk. Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh ekstrak daun belimbing botol terhadap pertumbuhan bakteri, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) dengan cara mengukur total zona hambat yang terjadi.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing botol dengan konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 60% dan kontrol positif membentuk zona bening disekitaran sumuran (Gambar 1) membuktikan bahwa ekstrak daun belimbing botol memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acne*.



**Gambar 1.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Botol

**Tabel 1.** Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Belimbing Botol (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* Menggunakan Metode Sumuran Dalam Waktu 24 jam

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			
	I	II	III	Rata-Rata
Kontrol (-)	0	0	0	0
Kontrol (+)	31	36,6	41,1	36,2
Konsentrasi 10%	13,8	16	12	13,9
Konsentrasi 20%	16,8	18	18,5	17,7
Konsentrasi 40%	20,9	15,7	18,5	18,3
Konsentrasi 60%	19,2	21,8	25,6	22,2

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing botol terhadap *Propionibacterium acne* pada hari pertama (24 jam) didapatkan zona hambat pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 60% rata-ratanya sebesar 13,9 mm, 17,7 mm, 18,3 mm, dan 22,2 mm (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing botol memiliki aktivitas antibakteri dan

mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*. Dan terdapat kecenderungan bahwa konsentrasi ekstrak daun belimbing botol yang berbeda memberi pengaruh terhadap diameter zona bening dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne* yang terbentuk.

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Belimbing Botol (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* Menggunakan Metode Sumuran Dalam Waktu 72 jam

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			
	I	II	III	Rata-Rata
Kontrol (-)	0	0	0	0
Kontrol (+)	31	28,5	37	32,1
Konsentrasi 10%	17	14	12	14,3
Konsentrasi 20%	21	17	15	17,6
Konsentrasi 40%	19	14	21,5	18,1
Konsentrasi 60%	24	16	29,5	23,1

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing botol terhadap *Propionibacterium acne* pada hari yang ketiga (72 jam) didapatkan zona hambat dengan konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 60% dan memiliki rata-rata 14,3 mm, 17,6 mm, 18,1 mm, dan 23,1 mm (Tabel 3). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun belimbing botol memiliki aktivitas antibakteri dan

mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acne*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing botol maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terjadi. Pada Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan juga bahwa masing-masing konsentrasi memiliki respon hambatan yang dikategorikan sangat kuat dan kuat berdasarkan kriteria David dan Stout

(1971), zona hambat yang lebar dihasilkan pada konsentrasi 60% lalu kemudian diikuti dengan 40%, 20% dan 10%.

Dilakukan pengamatan 3 x 24 jam yaitu ingin melihat apakah pada pengamatan hari pertama dan hari ketiga menghasilkan data yang reliable atau konsisten dan hasil yang diperoleh bukan karena faktor peluang melainkan pengaruh dari perlakuan ekstrak yang diberikan.

Diameter zona hambat pada kontrol negatif yang menggunakan aquades pada semua sumuran tidak terbentuk (Tabel 1 dan Tabel 2), hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri tidak dipengaruhi oleh faktor pelarut sehingga aktivitas antibakteri yang dilakukan merupakan potensi yang dimiliki oleh ekstrak daun belimbing botol.

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. Kontrol positif clindamycin yang digunakan diperoleh zona hambat yang terjadi dengan rata-rata 36,2 mm pada 24 jam dan 32,1 mm pada 72 jam.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi L.*) memiliki aktivitas sebagai penghambat terhadap bakteri *propionibakterium acne* penyebab jerawat.
2. Pada masing-masing konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 60% pada waktu 24 jam dan 72 jam memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *propionibakterium acne* dengan hasil zona hambat yang dikategorikan kuat 10%, 20%, 40% dan sangat kuat 60%.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa spesifik yang berkhasiat sebagai antibakteri pada daun belimbing botol dan aktivitas antibakteri pada bakteri penyebab jerawat lainnya yaitu *Staphylococcus epidermidis*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan, D. & Mulyani, S. 2004. *Farmakognosi*. Swadaya, Jakarta.
- Katzung, G. & Trevor, A. J. 2009. *Buku Bantu Farmakologi*. EGC, Jakarta.

Clindamycin bersifat bakteriostatik, dimana bakteriostatik merupakan aktivitas antibiotik yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba tetapi tidak membunuh mikroba tersebut (Madigan dan Martinko, 2006). Mekanisme kerja clindamycin adalah dengan menghambat sintesis protein mikroorganisme dengan mempengaruhi subunit ribosom 50s, sehingga mengganggu proses pembentukan rantai peptidoglikan bakteri (Katzung dan Trevor, 2009).

Kandungan daun belimbing botol menunjukkan adanya aktivitas antibakteri karena mengandung flavonoid, tanin dan saponin yang berperan menghambat bakteri uji yang dimana kandungan flavonoid dapat menghambat DNA bakteri sehingga terjadi hambatan dalam proses replikasi dan translasi bakteri. Kandungan tanin dapat merusak sitoplasma sehingga bakteri akan rusak dan mati. Dan kandungan saponin akan menurunkan tegangan permukaan sehingga terjadi kebocoran sel yang mengakibatkan senyawa intraseluler keluar (Yonanda *et al.*, 2016).

Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium Edisi 1*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.

Madigan, M. T. & Martinko, J. M. 2006. *Biology of Microorganisms*. PrenticeHall. New Jersey.

Miratunnisa, L. Mulqie, & S. Hajar. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Kentang (*Solanum Tuberosum L.*) terhadap *Propionibacterium*. *Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba*. 1(2).

Mollerup, S., J. Friis-Nielsen., L. Vinner., T. A. Hansen., S. R. Richter., H. Fridholm., J. A. R. Herrera., O. Lund., S. Brunak., J. M. G. Izarzugaza., T. Mourier., L. P. Nielsen., & A. J. Hansen. 2016. *Propionibacterium acnes*: Disease-Causing Agent or Common Contaminant? Detection in Diverse Patient Samples by Next-Generation Sequencing. *Journal Of Clinical Microbiology*. 54(4): 980–987.

Prayoga, E. 2013. *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus*

*aureus*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana Merr*) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2): 149-153.

Saifuddin, A., V. Rahayu., & H. Y. Teruna. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Graha Ilmu, Jogjakarta.

Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test*. The Williams and Wilkins Company, USA.

Yonanda, R, C., Dwi W., & Siti M., 2016. *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap Daya Hambat Staphylococcus Epidermidis*. Prodi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, Jember.

Yusriani. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan Yamas*. 1(2).