

UJI ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* MENGGUNAKAN METODE DILUSI

Wella Astuti¹, Dwi Susanti^{2*}, Tutik³

¹⁻³Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Malahayati

^{*}Email Korespondensi: dwisusanti.dwisus@gmail.com

Abstract: Antibacterial Tests of Ethanol Extract of Belimbing Wuluh Leaves (*Averrhoa Bilimbi* L.) on *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli* Bacteria Using The Dilution Method. *Wuluh Starfruit leaves (Averrhoa bilimbi L.) have secondary metabolite compounds that have potential as antibacterial against Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria. To determine whether the ethanol extract of starfruit leaves (Averrhoa bilimbi L.) could inhibit the growth of Staphylococcus aureus and Escherichia coli, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum killing concentration (KBM) against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Extraction method by maceration using 96% ethanol, phytochemical screening tests and antibacterial tests were carried out using the dilution method at concentrations of 2%, 4%, 6%, 8%, 10%. Phytochemical screening for test secondary metabolite compounds obtained results showing that starfruit leaves contain alkaloids, flavonoids, phenolics, saponins, tannins, terpenoids and steroids. Antibacterial test by dilution method at concentrations of 2%, 4%, 6%, 8%, 10% obtained results on Staphylococcus aureus and Escherichia coli bacteria showed a minimum inhibitory concentration (MIC) of 8% and a minimum kill concentration (KBM) of 8%. Wuluh Starfruit leaves extract can inhibit the growth of Staphylococcus aureus and Escherichia coli.*

Keywords: *Wuluh starfruit leaves, Dilution, Antibacterial, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*

Abstrak: Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Dilusi. Daun belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, konsentrasi hambat minimum (KHM), dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode ekstraksi menggunakan maserasi menggunakan etanol 96%, dilakukan uji skrining fitokimia dan Uji antibakteri dengan metode dilusi pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10%. Skrining fitokimia untuk uji senyawa metabolit sekunder diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, terpenoid dan steroid. Uji antibakteri dengan metode dilusi pada konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, 10% diperoleh hasil pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM) yaitu masing-masing 8% dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) yaitu masing-masing 8%. Ekstrak daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci: *Daun belimbing wuluh, Dilusi, Antibakteri, Staphylococcus aureus, Escherichia coli*

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 (Putri, 2010). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur (WHO, 2014). Bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit infeksi diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Roslizawaty et al., 2013). *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri penyebab penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Ngaisah, 2010). *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 (Zaunit, 2019).

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (2018) perkembangan penyakit infeksi di Indonesia dapat dilihat dari beberapa data penyakit infeksi seperti Infeksi Saluran Pernapasan (ISPA) memiliki angka prevalensi sebesar 25 %, pneumonia memiliki insiden 1,8 % dan prevalensi 4,5 %, hepatitis memiliki angka prevalensi dua kali lebih tinggi pada tahun 2018 dibandingkan tahun 2013 yakni 1,2 %, sedangkan untuk diare memiliki insiden dan prevalensi pada semua umur di Indonesia adalah 3,5 % dan 7,0 %.

Penyakit diare merupakan penyebab kedua kematian pada anak di bawah lima tahun, dan menjadi penyebab kematian sekitar 760.000 anak setiap tahun.

Diare merupakan penyakit yang berbasis lingkungan dan terjadi hampir di seluruh daerah geografis di dunia. Setiap tahunnya ada sekitar 1,7 miliar kasus diare dengan angka kematian 760.000 anak di bawah 5 tahun. Pada negara berkembang, anak-anak usia di bawah 3 tahun rata-rata mengalami 3 episode diare pertahun. Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2019 menunjukkan jumlah penderita diare di Indonesia sebanyak 2.549 orang dan angka *Case Fatality Rate* (CFR) sebesar 1.14.

Pedoman penatalaksanaan WHO untuk diare akut dibedakan berdasarkan diare akut tanpa darah, diare yang diduga karena kolera, dan diare akut berdarah. Penyakit diare disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan penyakit patogen yang menyebabkan dehidrasi dengan berbagai mekanisme tergantung patotipenya. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Utomo et al., 2018). Menurut Departemen Kesehatan Indonesia (2018) pengobatan diare yang disebabkan oleh bakteri telah dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Masalah yang muncul adalah banyak terjadi kasus bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Timbulnya resistensi bahkan multiresistensi yang menyebabkan masalah dalam pengobatan penyakit infeksi. Oleh karena itu multiresistensi terhadap antibiotik menjadi masalah berat sehingga dibutuhkan usaha untuk mengembangkan obat tradisional asal tanaman yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Antibiotik diindikasikan untuk diare dengan dugaan kolera dan diare akut berdarah. Pemberian antibiotik idealnya diberikan setelah dilakukan pengambilan spesimen untuk kultur, namun pada kasus diare akut hanya 3% pasien dengan diare yang melakukan pemeriksaan kultur. Pemberian antibiotik yang tidak rasional dapat mengakibatkan resistensi antibiotik, dan upaya pengobatan/pelayanan kesehatan pada masyarakat tidak efektif dan efisien (Agtini, 2017).

Penggunaan tanaman sebagai obat sudah dikenal luas baik di negara berkembang maupun negara maju. Meluasnya penggunaan obat tradisional disebabkan kepercayaan masyarakat bahwa obat tradisional berbahan alami, lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping. Salah satu tanaman yang dapat berpotensi dalam antibakteri sebagai obat tradisional adalah belimbing wuluh.

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang sering dikonsumsi sebagai

obat tradisional pada penyakit. Daun belimbing wuluh mengandung zat-zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau disebut zat antiseptik sehingga dapat dijadikan sebagai bahan obat. Ekstrak dari daun belimbing wuluh dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri penyebab infeksi karena memiliki nilai medis (Saroh, 2019). Menurut Aprilia (2010) kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun belimbing wuluh adalah saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid, yang merupakan senyawa aktif dalam tanaman dan berkhasiat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit infeksi oleh bakteri.

Penelitian Saroh *et al.*, (2019) menunjukkan ekstrak etanol buah belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* meskipun daya hambatnya tidak sebesar antibiotik sintetik karena ekstrak daun belimbing wuluh memiliki senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun dan dapat menghambat bahkan membunuh bakteri dengan cara merusak dinding dan membran sel yang ditandai dengan adanya kebocoran asam nukleat dan protein. Data penelitian tersebut didukung oleh hasil ekstrak etanol buah belimbing wuluh lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dari pada ekstrak daunnya dilihat dari nilai absorbansi yang dihasilkan pada kedua panjang gelombang, yaitu 260 nm dan 280 nm.

Berdasarkan permasalahan tersebut maka akan dilakukan penelitian ekstraksi daun belimbing wuluh dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak yang diperoleh akan diuji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode dilusi.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *blender*, *rotary evaporator*, timbangan analitik, spatula, kain kasa, pinset, oven, *autoclave*, *ose*, *incubator*, cawan petri, corong, kapas

steril, penggaris atau *zona reader*, gelas ukur, mikropipet, tabung reaksi, rak tabung, bunsen, dan jangka sorong.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing wuluh sebagai bahan utama sampel, etanol 96% sebagai pelarut, akuades, NaCl 0,9% steril, Media *Nutrient Agar* (NA) media *Nutrient Broth* (NB), biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* akuades steril sebagai kontrol negative dan antibiotik Amoxicillin sebagai kontrol positif.

Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan untuk menyatakan kebenaran nama ilmiah sampel yang digunakan dalam penelitian. Tahap determinasi tanaman akan dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Lampung.

Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Daun belimbing wuluh yang diambil adalah daun muda, berwarna hijau, segar dan tidak berjamur. Sebanyak 500 g daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dikumpulkan terlebih dahulu lalu dibersihkan dengan air mengalir dan kemudian dipotong tipis-tipis, dikeringkan hingga benar-benar kering di udara terbuka dan kemudian dihaluskan (*simplisia*).

Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun belimbing wuluh adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2 liter dalam bejana tertutup rapat selama 3 hari sambil sesekali diaduk atau digoyangkan. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan saringan untuk memisahkan filtrat dari ampas. Ampas daun belimbing wuluh dimaserasi kembali dan diulang sebanyak 3 kali dengan 2 liter etanol 96% agar dapat dipastikan zat aktif daun belimbing wuluh terekstraksi secara sempurna. Hasil yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Filtrat dipekatkan dengan menguapkan pada suhu 50°C menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak pasta yang bebas dari pelarut. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan.

Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 3 mL sampel diuapkan, dicuci, dengan heksana sampai jernih. Residu dilarutkan dalam 20 mL etanol kemudian disaring. Filtrat dibagi 3 bagian A, B dan C. Filtrat A sebagai blanko, filtrat B ditambahkan larutan H₂SO₄ pekat kemudian dipanaskan pada penangas air. Jika terjadi perubahan warna hijau kekuning-kuningan menunjukkan adanya flavonoid. Filtrat C ditambahkan larutan NaOH 10%. Jika terjadi warna biru-ungu menunjukkan adanya flavonoid.

2. Uji Tanin

Sebanyak 1 mL sampel ditambahkan dengan 5 mL akuades kemudian dipanaskan pada suhu 50 °C selama 5 menit. Larutan kemudian disaring dan filtratnya ditambahkan 5 tetes FeCl₃ 1%. Adanya warna biru tua atau hijau kehitaman yang terjadi menunjukkan adanya tanin.

3. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dengan akuades. Panaskan selama 2 menit, dan dinginkan kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Terbentuknya endapan putih menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid.

4. Saponin

Sebanyak 3 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 mL menunjukkan adanya saponin.

5. Uji Fenolik

Sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dengan akuades. Tambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃. Perubahan warna hitam yang terjadi menunjukkan hasil positif mengandung fenol.

6. Uji Steroid

Sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dengan 0,5 mL asam asetat glacial. Tambahkan 0,5 mL larutan H₂SO₄. Perubahan Warna biru, ungu atau hijau yang terjadi menunjukkan hasil positif mengandung steroid.

7. Uji Terpenoid

Sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu dilarutkan dengan 0,5 mL asam asetat glacial. Tambahkan 0,5 mL larutan H₂SO₄. Perubahan Warna merah atau kuning yang terjadi menunjukkan hasil positif mengandung Terpenoid.

Pengujian Antibakteri

1. Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan sebaiknya dicuci terlebih dahulu hal ini dilakukan untuk mengurangi terjadinya kontaminasi oleh organisme lain. Alat yang berbahan kaca dan media disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dilakukan sterilisasi dengan autoklaf alat-alat dikeringkan dengan oven pada suhu 120°C selama 30 menit.

2. Pembuatan Media

a. Media *Nutrient Agar* (NA)

Medium NA dibuat dengan cara timbang media NA 2,8 gram dan larutkan dalam 100 mL akuades kemudian panaskan di atas *hotplate* hingga homogen, kemudian sterilkan pada autoklaf suhu 121°C selama 1 jam guna menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah sterilisasi, media dapat dituang secara aseptis pada cawan petri steril untuk penggunaan. Sebelum menuang media, tunggu hingga suam-suam kuku (± 40 C) lalu dibiarkan pada suhu ruang hingga media memadat dengan sempurna (Oxoid, 2006).

b. Media *Nutrient Broth* (NB)

Sebanyak 8 gram bubuk NB dilarutkan dengan 1 liter akuades dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu medium NB disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3. Peremajaan Bakteri

Proses ini dilakukan dengan mengambil satu ose biakkan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*, lalu inokulasikan pada media NA dengan menggoreskan pada permukaan agar miring membentuk *zigzag* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Fitriyani *et al.*, 2019).

4. Pembuatan Larutan Standar Kekeruhan *Mc Farland*

Larutan *Mc Farland* dibuat dengan cara campurkan 0,05 mL NaCl 1% dengan 0,95 mL H₂SO₄ 1% dalam tabung reaksi, kocok sampai homogen, kemudian tutup rapat untuk mencegah terjadinya penguapan (Pakekong *et al.*, 2016).

5. Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* yang sudah diinokulasi disuspensikan dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% pada tabung reaksi kocok sampai homogen, samakan dengan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5 menggunakan nephelometer (Bahar & Yusmaini, 2018).

6. Uji Daya Hambat (Dilusi Cair dan Padat)

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan menggunakan dilusi cair dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode *Pour Plate*. Disiapkan 7 tabung reaksi yang sudah steril, masing-masing diberi label konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%, akuades steril sebagai kontrol negatif (-) dan amoxicilin kontrol positif (+). Masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Tiap tabung diisi dengan 0,5 mL medium NB. Selanjutnya tabung konsentrasi 2% diisi dengan 0,5 ml ekstrak. Tabung konsentrasi 4% diisi dengan 0,5 ml ekstrak. Tabung konsentrasi 6% diisi dengan 0,5 ml ekstrak. Tabung konsentrasi 8% diisi dengan 0,5 ml ekstrak. Tabung konsentrasi 10% diisi

dengan 0,5 ml ekstrak. Tabung berlabel (-) diisi dengan akuades yang sudah disterilkan. Tabung berlabel (+) diisi dengan 0,5 ml larutan antibiotic amoxicillin.

Tahap selanjutnya ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri dengan mikropipet pada tabung 1 sampai 5. Tabung 6 berisi akuades steril. Tabung terakhir berisi kuman, media dan amoxicillin sebagai control positif. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Sabban dkk, 2017). Hari ke-2 semua tabung dikeluarkan dari inkubator kemudian dilakukan pemeriksaan ada tidaknya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung. KHM ditentukan dengan memperhatikan tabung. Tabung yang terlihat keruh menunjukkan masih adanya pertumbuhan bakteri. Untuk mengetahui KBM dilakukan uji lanjutan dengan mencampurkan ekstrak 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% media NA bakteri kedalam cawan steril kemudian digoyang sampai homogen. Cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. KBM dapat dilakukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada media (Jebarus, 2015).

Analisis Data

Data dianalisis secara kualitatif dengan melihat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* (Yusrina dan Aditya, 2014).

HASIL

Hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Unila menunjukkan bahwa nama ilmiah belimbing wuluh adalah (*Averrhoa bilimbi* L.). Ekstraksi maserasi mendapat hasil 11,87 gram dengan rendemen sebesar 2,37%.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi

Bobot Simplisia (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	11,87	2,37

Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) positif mengandung senyawa saponin, steroid, tanin, alkaloid, fenolik, flavonoid dan negatif mengandung senyawa terpenoid.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa Metabolit	Indikator Positif	Hasil Pengamatan	Keterangan
Saponin	Terbentuk busa atau buih	Terbentuknya busa	+
Steroid	Larutan warna biru atau ungu	Larutan berwarna kuning	+
Terpenoid	Larutan warna merah atau jingga	Larutan berwarna hitam	-
Tanin	Warna biru tua atau hijau kehitaman	Larutan berwarna hijau kehitaman	+
Alkaloid	Adanya endapan putih	Terdapat endapan putih	+
Flavonoid	Larutan warna merah, jingga atau kuning	Larutan berwarna kuning	+
Fenolik	Larutan warna hijau	Larutan berwarna hijau	+

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan 3 kali pengulangan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Nama Bakteri	Konsentrasi (%)	Hasil Uji		
		P1	P2	P3
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	+	+	+
	4	+	+	+
	6	+	+	+
	8	-	-	-
	10	-	-	-
	Kontrol Positif (+) Kontrol Negatif (-)	- +	- +	- +
<i>Escherichia Coli</i>	2	+	+	+
	4	+	+	+
	6	+	+	+
	8	-	-	-
	10	-	-	-
	Kontrol Positif (+) Kontrol Negatif (-)	- +	- +	- +

Hasil uji Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi (%)	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri <i>Escherichia coli</i>
2%	+	+
4%	+	+
6%	+	+
8%	-	-
10%	-	-

PEMBAHASAN

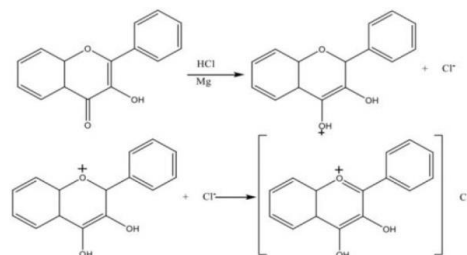
Penelitian uji antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode dilusi. Daun belimbing wuluh dilakukan dideterminasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Unila untuk memastikan kebenaran identitas sampel. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah benar daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Determinasi tumbuhan bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas suatu tanaman untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan tanaman. Determinasi tumbuhan didasarkan pada acuan suatu sistem klasifikasi tanaman (Faisal *et al.*, 2018).

Daun belimbing wuluh diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Penggunaan metode maserasi karna proses pengerjaannya mudah dan peralatan yang cukup sederhana, ekstrak yang telah diperoleh dari proses maserasi lalu diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga menjadi kental. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96%. Alasan penggunaan pelarut etanol 96% adalah bersifat selektif karena hanya menarik zat berkhasiat yang diinginkan, absorpsinya baik, kapang dan khamir

sulit tumbuh, mudah menguap dan mendapatkan ekstrak kental lebih cepat dibandingkan pelarutkan etanol 70% (Misna dan Diana, 2016).

Hasil ekstaksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diperoleh ekstrak sebanyak 11,8 g dengan rendemen 2,37%. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang diperoleh setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan diawal ekstraksi. Pada ekstraksi belimbing wuluh yang diperoleh <10%, rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% hasil tersebut kemungkinan dipengaruhi waktu, suhu, pengadukan dan pelarut saat proses ekstraksi (Febrina, 2005) Oleh karna itu, rendemen ekstrak kasar yang didapatkan dinyatakan baik karena hasil rendemen >10% (Wardaningrum, 2020).

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) positif mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, steroid. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Lidyawati dan Ruslan (2006) bahwa daun belimbing wuluh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid. Dan negatif mengandung senyawa terpenoid (Tabel 2).

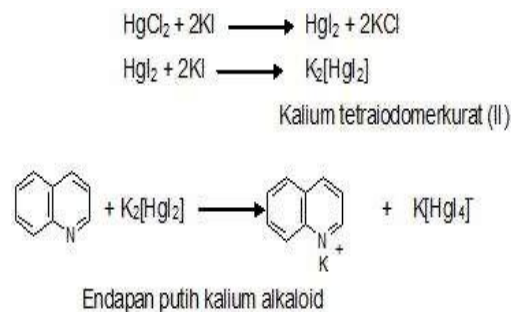


Gambar 1. Struktur Uji Flavonoid (Illing, 2017)

Skrining fitokimia flavonoid ekstrak daun belimbing wuluh berubah menjadi warna coklat ada busa yang berarti positif mengandung flavonoid. Logam Mg dan HCl pekat mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna merah kuning. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014) yang menyatakan Mg^{2+} dan HCl pekat akan membentuk kompleks $[Mg(OAr)_6]^{4+}$ yang ditandai dengan terbentuknya warna larutan merah, kuning atau coklat ada busa.

Skrining fitokimia positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan

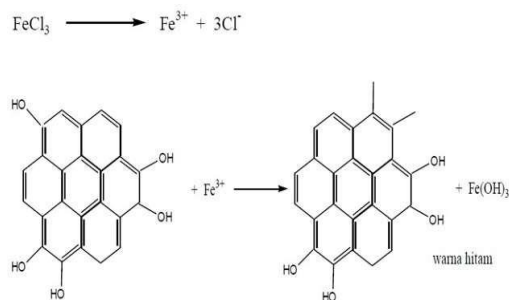
putih. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014) yang menyatakan bahwa senyawa alkaloid dibuktikan terdapat endapan berwarna putih pada mayer. Reaksi yang akan terjadi pada uji ini berupa pengendapan karena adanya pergantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion iod dalam pereaksi mayer. Hal ini menyebabkan terbentuknya endapan putih kekuningan karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.



Gambar 2. Reaksi Uji Alkaloid (Illing, 2017)

Uji Tanin pada ekstrak daun belimbing wuluh memberikan hasil positif dengan hasil pengamatan terbentuknya busa dan larutan berwarna hijau tua. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014)

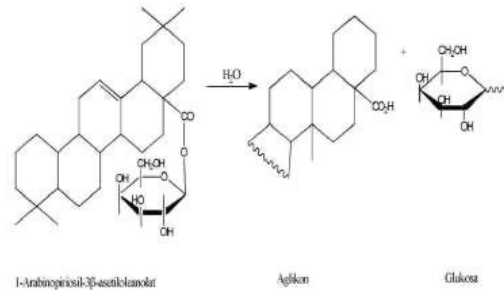
terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa golongan kuinon. Terbentuknya warna hitam kebiruan karena penambahan $FeCl_3$ akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks.



Gambar 3. Reaksi Uji Tanin (Setiabudi & Tukiran, 2017)

Uji saponin pada ekstrak daun belimbing wuluh memberikan hasil positif dengan hasil pengamatan terbentuknya busa dan larutan berwarna jingga kemerahan. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014) timbul

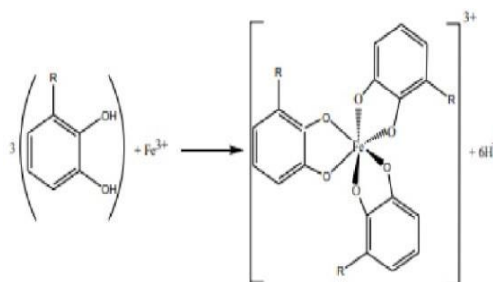
buih yang stabil dalam waktu ± 10 menit. Timbulnya busa pada uji ini disebabkan karena glikosida memiliki kemampuan memperoleh buih pada air dan mengalami hidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya. senyawa saponin.



Gambar 4. Hidrolisis Uji Saponin (Setiabudi & Tukiran, 2017)

Uji fenolik ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan hasil positif karena terjadi perubahan warna menjadi hitam kebiruan. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014) Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau

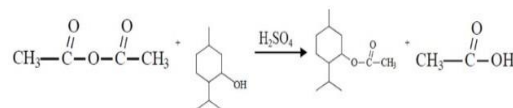
kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan FeCl_3 1%. Penambahan reagen FeCl_3 1% terjadi perubahan warna dari coklat kehijauan menjadi warna hitam kebiruan. Penambahan FeCl_3 1% digunakan untuk menentukan kandungan senyawa fenol.



Gambar 5. Reaksi Uji Fenolik (Jati, et al., 2019)

Uji Terpenoid ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan hasil negatif untuk uji terpenoid karena terjadi perubahan warna menjadi warna hitam

kehijauan, Halini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014) perubahan warna menjadi kuning atau merah menunjukkan positif terpenoid.



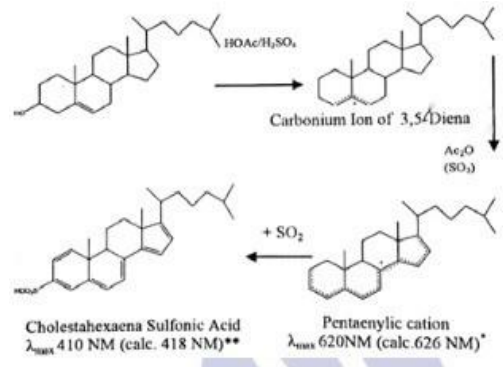
Gambar 6. Reaksi Uji Terpenoid dengan Pereaksi Liebermsnn-burchard (Setiabudi & Tukiran, 2017)

Uji Steroid ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan hasil positif karena terjadi perubahan warna menjadi warna

hijau kehitaman. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur Tasmin dkk. (2014) perubahan warna biru, hijau atau ungu

menunjukkan positif Steroid. Gugus yang berperan pada steroid adalah adanya dua ikatan rangkap terkonjugasi di cincin

B atau satu ikatan rangkap dan gugus metilen di C7 yang dapat mengalami oksidasi dan dehidrogenasi.



Gambar 7. Reaksi Uji Steroid (Simaremare, 2014)

Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri Ekstrak etanol daun belimbing wuluh dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dengan metode dilusi, parameter yang digunakan adalah kekeruhan (ada pertumbuhan bakteri) dan kejernihan (tidak ada pertumbuhan bakteri) yang terlihat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji antibakteri ini dengan variasi konsentrasi ekstrak dimulai dari 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, kontrol positif antibiotik amoxicillin dan kontrol negatif akuades yang diteteskan pada natrium broth kemudian diletakan pada media Agar yang telah ditumbuhi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini yang saya ulang sebanyak 3 kali pengulangan, dilakukan agar hasil lebih maksimal sehingga mutlak adanya hasil tersebut.

Hasil penelitian ini pada konsentrasi hambat minimum (KHM) percobaan pertama bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6% menunjukkan kekeruhan yang ditandai adanya pertumbuhan bakteri sedangkan pada konsentrasi 8% dan 10% menunjukkan kejernihan yang artinya tidak ada pertumbuhan bakteri. KHM ekstrak belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 8%. terhadap Pada percobaan pertama untuk bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6% menunjukkan kekeruhan yang ditandai

adanya pertumbuhan bakteri sedangkan pada konsentrasi 8% dan 10% menunjukkan kejernihan yang artinya tidak ada pertumbuhan bakteri. KHM ekstrak belimbing wuluh terhadap *Escherichia coli* yaitu 8%. Lalu untuk kontrol positif (amoxicillin) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan kejernihan yang ditandai tidak ada pertumbuhan bakteri. Sedangkan kontrol negatif (aquadest) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan kekeruhan yang ditandai ada pertumbuhan bakteri.

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dilakukan dengan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi padat ekstrak dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% dicampurkan dengan teknik *pour plate* pada media NA bakteri kedalam cawan steril kemudian digoyang sampai homogen. Hasilnya pada bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat media NA konsentrasi 2%, 4%, 6% ada pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 8% dan 10% tidak ada pertumbuhan bakteri. Nilai KBM ekstrak belimbing wuluh terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu 8%. Untuk hasil pada bakteri *Escherichia coli* terdapat media NA konsentrasi 2%, 4%, 6% ada pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 8% dan 10% tidak ada pertumbuhan bakteri.

Nilai KBM ekstrak belimbing wuluh terhadap *Escherichia coli* yaitu 8%.

Daun belimbing wuluh mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu Flavanoid, Alkaloid, Tanin dan Saponin yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Flavonoid sebagai antibakteri menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri dengan cara merusak membrane sitoplasma dan mendenaturasi protein sel. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan system enzim bakteri, kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri (Rijayanti, 2014).

Mekanisme kerja antibakteri alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Mekanisme lain antibakteri alkaloid yaitu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri. Senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Aprilina, 2016). Mekanisme kerja antibakteri tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Ngajow, 2017). Saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Harbone, 2006). Pada penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh dapat menghambat pertumbuhan

bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Dengan nilai KHM dan KBM pada *Staphylococcus aureus* yaitu konsentrasi 8% dan *Escherichia coli* yaitu konsentrasi 8%.

KESIMPULAN

Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun belimbing wuluh pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu masing-masing 8%. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun belimbing wuluh pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu masing-masing 8%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agtini, M. D., & Puspendari, N (2017). Penggunaan Antibiotik pada Balita dengan Diare Anak di 5 Provinsi di Indonesia. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 6(1).
- Aprilia, P. R., Sri, A. B. S., dan Dian, W. H (2010). Jumlah *Staphylococcus aureus* dan kandungan *nutrient* susu akibat dipping puting menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) Pada Sapi Perah Penderita Mastitis Subklinis. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(1), 43-51
- Bahar M. & Yusmaini H (2018). Efek Antimikroba Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera*) Terhadap Isolat Bakteri Penyebab *Acne vulgaris* Secara *Invitro*. *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 11(2).
- Faisal, R (2018). Aktivitas Antipiretik Ekstrak Etanol Daun Jambu Mawar (*Syzygium jambos* (L.) Alston) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. [Skripsi]. Universitas Garut.
- Febrina, D (2005). Hubungan Pola Makan dengan Kadar Gula Darah Pasien Diabetes Melitus di Laboratorium Klinik Pratama Analisa Pekalongan.
- Fitriyani, Abdurrazaq & Nazarudin M (2019). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr)

- Terhadap *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5(2), 147-182.
- Iling, I (2017). Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. Karya Tulis Ilmiah. Palopo: Universitas Cokroaminoto Palopo.
- Jebarus, Anisetus Ratnasari (2015). *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah Petai (Parkia speciosa Hassk.) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Skripsi thesis, Sanata Dharma University.
- Misna, Diana K (2016). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Galen J Pharm*. 2(2):138-44.
- Ngaisah, S (2010). Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Asal Magelang. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Oxoid (2006). Manual Oxoid. Edisi 9. Oxoid Limited : Bandung.
- Pakekong, E. D (2016). Uji Daya Hambat Ekstrak Bawang Bombay (*Allium cepa* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. *Pharmacon*, 5(1).
- Putri, Z. M (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus Multiresisten*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Roslizawaty., Ramadani, N. Y., Fakhurrazi, dan Herrialfian (2013). Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol Dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia Sp.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol. 7 No. 2, p. 91.
- Saroh, M. M (2019). Perbandingan Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Perbandingan Efektivitas Antibakteri*.
- Setiabudi, D. & Tukiran (2017). Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (*Syzygium litorale*). *Unesa Journal of Chemistry*, 6(3), 155-160.
- World Health Organization (2014). *Global Report for Research on Infectious Diseases of Poverty*. WHO
http://who.int/entity/tdr/capacity/global_report/en/-29k
- Zaunit, M. M., Febria, F. A., & Bakhtiar, A (2019). Pengendalian *Staphylococcus aereus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus Aereus* Menggunakan Ramuan Obat Diare Masyarakat Maek. *Jurnal Metamorfosa*, 7(11), 14-18.