

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Propionibacterium acnes* Menggunakan Metode Bioautografi

Antibacterial Activity Test of Extract and Fractions of Wuluh Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) on *Propionibacterium acnes* Using Bioautografi

¹Novia Dyah Ayu Wulandari, ²Kiki Mulkiya Yuliawati, ³Reza Abdul Kodir
^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116
email: ¹noviadyah60@gmail.com, ²qqmulkiya@gmail.com, ³reza.abdul.kodir@gmail.com

Abstract. Acne vulgaris can be caused by infection of *Propionibacterium acnes*. These bacteria are not pathogenic in normal conditions, but when there is a change of skin conditions, then they turn into pathogenic bacteria. This study aims to determine the antibacterial activity of methanol extract, and N-hexane, ethyl acetate, and water fractions of wuluh starfruit. Wuluh starfruit was extracted by maceration using methanol, followed by fractionation using Liquid-Liquid Extraction method. Antibacterial activity was tested using agar diffusion method and TLC Bioautografi. The concentration of extracts and fractions used are 10%; 15%; 20%; 25%. The test results of obtained antibacterial activity showed that all tested concentrations of the extract, the fraction of water and ethyl acetate caused inhibition zone while on a fraction of N-hexane did not. Ethyl acetate fraction with a concentration of 25% provides higher antibacterial activity *P.acnes* than other test samples. Bioautografi TLC test showed the presence of inhibitory zone on spots with Rf 0.07; 0.38; 0.62 and identified using blots viewer showed a yellow spot at Rf 0.08; 0.37; 0.65 and is claimed as an alleged class of flavonoids.

Keywords: Wuluh Starfruit, *Averrhoa bilimbi* L., antibakteri, *Propionibacterium acnes*, TLC Bioautografi.

Abstrak. *Acne vulgaris* dapat disebabkan oleh infeksi bakteri *Propionibacterium acnes*. Bakteri ini tidak bersifat patogen pada kondisi normal, tetapi bila terjadi perubahan kondisi kulit, maka bakteri tersebut berubah menjadi patogen. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol, fraksi N-heksan, etil asetat, dan air buah belimbing wuluh. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dan dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan metode Ekstraksi Cair-Cair. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran difusi agar dan KLT Bioautografi. Konsentrasi ekstrak dan fraksi yang digunakan sebesar 10%; 15%; 20%; 25%. Hasil pengujian aktivitas antibakteri yang diperoleh menunjukkan bahwa pada semua konsentrasi yang diujikan dari ekstrak, fraksi air dan etil asetat menimbulkan zona hambat sedangkan pada fraksi N-heksan tidak. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi 25% memberikan aktivitas antibakteri lebih tinggi terhadap *P.acnes* dibandingkan sampel uji lain. pengujian KLT bioautografi menunjukkan adanya zona hambat pada bercak dengan Rf 0,07; 0,38; 0,62 dan diidentifikasi dengan menggunakan penampak bercak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning pada Rf 0,08 ; 0,37 ; 0,65 dan diduga merupakan golongan senyawa flavonoid.

Kata Kunci : Buah belimbing wuluh, *Averrhoa bilimbi* L., antibakteri, *Propionibacterium acnes*, KLT Bioautografi.

A. Pendahuluan

Acne vulgaris dianggap sebagai penyakit kulit. Insiden acne vulgaris 85-100 % dan biasanya terjadi pada umur remaja. Prevalensi tertinggi yaitu pada umur 16-17 tahun dimana para remaja putri berkisar antara 83-85 % dan pada remaja pria berkisar 95-100 % (Goodman 1999: 613). Meskipun demikian acne vulgaris pun terjadi pada usia lebih muda atau lebih tua dari usia tersebut. Sehingga berbagai obat telah dikembangkan untuk memberikan solusi paling efektif dan efisien. Sehingga dilakukan suatu upaya pengembangan obat acne vulgaris dengan eksplorasi senyawa antibakteri yang ada pada bahan-bahan alam (Nanik et al, 2006 : 81-94).

Ada banyak tumbuhan yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P.acnes*. Salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antibakteri yaitu belimbing

wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). Belimbing wuluh merupakan salah satu tumbuhan asli Indonesia dan dataran Malaya. Belimbing wuluh banyak ditemui sebagai tanaman pekarangan yang mudah ditanam dan tidak memerlukan perawatan khusus. Pohon belimbing wuluh berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Kemampuan tanaman ini untuk menghasilkan buah sepanjang tahun tidaklah sebanding dengan pemanfaatannya, sehingga banyak buah segar yang terbuang sia-sia. Masyarakat awam memakai belimbing wuluh ini sebagai bahan tambahan masakan.

Berdasarkan permasalahan diatas maka dapat di rumuskan permasalahan, Apakah buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P.acnes*. Dan dalam penelitian ini, identifikasi senyawa aktif antibakteri tersebut dengan menggunakan metode KLT-Bioautografi dan membandingkan senyawa yang ada didalam ekstrak dan fraksi buah belimbing wuluh dengan melihat aktivitas antibakteri yang ditimbulkan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi dari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *P.acnes*, melihat dan membandingkan zona hambat yang ditimbulkan oleh aktivitas dari ekstrak dan fraksi buah belimbing wuluh, mengetahui golongan senyawa pada fraksi terpilih buah belimbing wuluh yang memiliki aktivitas antibakteri.

B. Landasan Teori

Buah belimbing wuluh menurut Cronquist (1981) serta Muhlisan (2007), memiliki klasifikasi adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae (tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Anak-kelas	: Rosidae
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Oxalidaceae (suku belimbing-belimbingan)
Marga	: <i>Averrhoa</i>
Jenis	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.

Belimbing wuluh merupakan tanaman berbentuk pohon kecil, tinggi mencapai 10 m dengan batang yang tidak begitu besar dan mempunyai garis tengah hanya sekitar 30 cm. Ditanam sebagai pohon buah, kadang tumbuh liar dan ditemukan dari dataran rendah sampai 500 m. Daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau, permukaan bawah warnanya lebih muda. Ciri buah belimbing wuluh yaitu buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi hingga seperti torpedo, panjangnya 4-10 cm. Warna buah ketika muda hijau dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Apabila buah sudah masak, maka buah berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya mengandung banyak air dan rasanya asam. Kulit buahnya berkilap dan tipis, biji bentuknya bulat telur (Wijayakusuma dan Dalimartha, 2006 : 14).

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit. Hasil pemeriksaan kandungan kimia buah blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mengandung senyawa golongan oksalat, minyak atsiri, fenol, flavonoid, pektin, saponin, dan triterpen (Parkesit dan Mario, 2009: 68). Diketahui bahwa senyawa flavonoid bersifat aktif sebagai antimikroba. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja mengganggu fungsi membran sitoplasma pada bakteri. (Parikesit dan Mario, 2011:

67).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan hijau. Senyawa flavonoid mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya dan tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆. Kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Markham, 1988:1; Robinson, 1995:191).

Ekstraksi merupakan proses pengambilan bahan aktif dari suatu material. Dalam proses ekstraksi, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang kepolarannya sesuai. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Ansel, 1989:607).

Fraksinasi merupakan metode pemisahan komponen campuran yang berasal dari ekstrak hasil ekstraksi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama yang lainnya berdasarkan perbedaan kepolaran. Metode fraksinasi yang biasa digunakan adalah dengan ekstraksi cair-cair dan kromatografi. Proses fraksinasi ekstrak secara ekstraksi cair-cair dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan atau koefisien partisi senyawa diantara dua pelarut yang saling tidak bercampur. Metode kromatografi dilakukan berdasarkan perbedaan waktu huni masing-masing zat dalam fase gerak-fase diam (Harborne, 1987:7-8; Megawati, 2010:7).

Menurut Jawetz, E., Melnic, J.C., & Adelberg, E.A., (2001) klasifikasi dari *Propionibacterium acnes* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Actinobacteria
Kelas	: Actinobacteria
Bangsa	: Actinomycetales
Suku	: Propionibacteriaceae
Marga	: Propionibacterium
Jenis	: <i>Propionibacterium acnes</i>

Propionibacterium acnes merupakan bakteri Gram positif yang tumbuh lambat dan bukan pembentuk spora serta bersifat anaerobic. Mereka dapat bertangkai atau bercabang, berbentuk tunggal atau kelompok. Pada umumnya memproduksi asam laktat, asam propionate, dan asam asetat dari glukosa. Walaupun *Propionibacterium acnes* dapat ditemukan pada kulit manusia, koloni sejati sebetulnya dimulai 1 sampai 3 tahun sebelum pematangan organ seksual. Banyaknya bakteri meningkat sedikit demi sedikit dari 10²/cm² sampai 10⁶/cm² (kebanyakan pada muka dan disekeliling area-areanya) (Jawetz, E., Melnic, J.C., & Adelberg, E.A., 2001:197-202).

KLT Bioautografi merupakan suatu metode yang spesifik untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, dan antiviral. Bioautografi juga merupakan suatu metode yang cepat untuk mendeteksi antibiotik yang belum diketahui yang mana metode kimia atau fisika yang terbatas untuk substansi yang murni. Sementara deteksi kimia reaksi warna hanya spesifik digunakan sebagai pembanding hasil bioautografi sehingga kedua metode tersebut saling melengkapi (Stahl, 1965: 17-20).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Hasil rendemen ekstrak metanol buah belimbing wuluh (70,37 %), kadar air yang terkandung pada simplisia (6,55%) Berdasarkan data tersebut simplisia buah belimbing

wuluh memenuhi persyaratan yaitu kadar air kurang dari 10%. Kadar air dilakukan untuk mengetahui batasan maksimal kandungan air pada simplisia, sehingga dapat mendukung kualitas simplisia untuk disimpan dalam waktu yang lama. Karena kadar air yang tinggi atau lebih dari 10% dapat memungkinkan simplisia ditumbuhi oleh jamur dan mikroorganisme yang dapat merusak dan mempengaruhi kualitas simplisia.

Tabel 1. Hasil Penetapan Parameter Non Spesifik Simplisia

Parameter Standar	Hasil Rata-Rata (%)	Pustaka (MMI) (%)
Kadar Air	6.55	-
Susut Pegeringan	10.66	-
Kadar Abu Total	4.59	tidak lebih dari 7.5
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0.26	tidak lebih dari 1

Tabel 2. Hasil Penetapan Parameter Spesifik Simplisia

Parameter Standar	Hasil Rata-Rata (&)	Pustaka (MMI) (%)
Kadar Sari Larut Air	62.10	tidak kurang dari 18%
Kadar Sari Larut Etanol	54.01	tidak kurang dari 11 %
Organoleptik	Hijau, Asam, Bau Khas	Hijau, Asam, Bau Khas

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Buah Belimbing Wuluh

Berikut adalah penelitian mengenai pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah belimbing wuluh terhadap *Propionibacterium acnes*

Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Buah Belimbing Wuluh

Nama Senyawa	Data Zona Hambat (mm)				
	10% ± SD	15% ± SD	20% ± SD	25% ± SD	pembanding ± SD
Ekstrak	0.63 ± 0.14	0.92 ± 0.14	1 ± 0.04	1.27 ± 0.15	0.96 ± 0.08
Fraksi Air	0.8 ± 0.09	0.9 ± 0.08	1.09 ± 0.01	1.12 ± 0.02	0.89 ± 0.10
Fraksi Etil Asetat	0.97 ± 0.04	1.04 ± 0.08	1.13 ± 0.05	1.3 ± 0.09	0.77 ± 0.06
Fraksi N-heksan	-	-	-	-	-

Keterangan: (-) = Tidak ada diameter hambat

** Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan

Dapat dilihat dari Tabel 1. Ekstrak, fraksi air dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi yang kecil yaitu pada konsentrasi 10% sudah memberikan aktivitas antibakteri, karena telah memberikan zona hambat yang jelas. Namun pada fraksi N-Heksan dengan konsentrasi besar yaitu 25% tidak memberikan aktivitas karena tidak memberikan zona hambat, karena sifat dari N-Heksan yaitu nonpolar. Menurut penelitian (Maya damayanti.2014). Menyebutkan bahwa sebagian besar senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri merupakan golongan senyawa yang bersifat semipolar menuju polar. Pada ekstrak menimbulkan zona hambat karena pada proses ekstraksi pelarut yang digunakan adalah metanol yang bersifat semipolar menuju polar sehingga

terdapat senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri. Jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat pada ekstrak masih memiliki senyawa yang kompleks sehingga aktivitas yang terjadi bukan hanya aktivitas antibakteri saja. Fraksi air dan fraksi etil asetat memiliki senyawa yang lebih spesifik dibandingkan dengan ekstrak sehingga menimbulkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan ekstrak. Fraksi etil asetat menimbulkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi air, karena sifat etil asetat yang semi polar sehingga dapat terkandung senyawa-senyawa antibakteri yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi air yang memiliki sifat yang lebih polar. Didapat hasil dari penelitian ini sesuai dengan literatur karena senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa-senyawa dengan golongan kepolaran yang semipolar menuju polar yang biasanya senyawa golongan flavonoid.

Pengujian KLT Bioautografi

Uji KLT bioautografi dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri suatu senyawa (Stahl, 1985). Dilakukan pengujian KLT bioautografi pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 25%. dengan fase gerak toluen dan metanol (15:1). Hasil pengujian KLT bioautografi menunjukkan adanya tiga bercak zona bening yaitu bercak dengan Rf 0,07; 0,38; 0,62. Dan diidentifikasi menggunakan penampak bercak, menunjukkan hasil dengan bercak Rf 0,08 ; 0,37 ; 0,65. Dapat diduga bahwa golongan senyawa aktif yang terdapat pada fraksi etil asetat buah belimbing wuluh adalah golongan senyawa flavonoid.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Pengujian KLT Bioautografi

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*.

Pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan difusi sumuran agar memiliki zona hambat yang baik dalam ekstrak metanol maupun dalam fraksi air dan etil asetat. Namun tidak menimbulkan aktivitas antibakteri pada fraksi n-heksan.

Golongan senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada fraksi etil asetat dari ekstrak metanol buah belimbing wuluh diduga adalah golongan senyawa flavonoid dengan nilai Rf zona bening pada media hasil bioautografi tidak jauh berbeda dengan Rf hasil penyemprotan dengan penampak bercak yaitu 0,07 ; 0,38 ; 0,62.

E. Saran

Perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut pada pengujian KLT bioautografi dengan fasa gerak yang berbeda dan penampak bercak spesifik untuk mendeteksi

senyawa yang mengandung antifungi atau antibakteri lain dari fraksi etil asetat buah belimbing wuluh dan perlu dilakukan isolasi senyawa aktif antibakteri yang ada pada buah belimbing wuluh.

Perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif yang berperan sebagai antibakteri yang ada pada buah belimbing wuluh.

Daftar Pustaka

- Ansel, H.C. (1989). Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi keempat, terjemahan Ibrahim, F., Penerbit Univesitas Indonesia (UI-Press), Jakarta.
- Cronquist, A. (1981). An Intergrated System Of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York.
- Goodman, G. 2006. Managing Acne Vulgaris Effectively. Dalam: Australian Family Physician Vol. 35, Victoria : Monash University, 705-708.
- Harborne, J.B., (2006). Metode Fitokimia. Penerbit ITB. Bandung. Hal:110.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2010, Mikrobiologi Kedokteran, Edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Nanik Sulistyani, Jurnal Ilmiah Kefarmasian keragaman isolate actinomycetes berdasarkan analisis RFLP terhadap gen NRPS, vol. 3, no.1 2013. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Muhlisan.F. 2007. Tanaman Obat Keluarga (Toga). Penebar swadaya : Jakarta.
- Stahl, E. (1985). Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Diterjemahkan oleh Fadmawinata dan Sudiro. Bandung : ITB.