

**UJI EFEKTIFITAS ANTIMIKROBA SENYAWA SAPONIN DARI  
BATANG TANAMAN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi* Linn)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MARIA FARADISA**  
NIM: 03530013



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG  
MALANG  
2008**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**UJI EFEKTIFITAS ANTIMIKROBA SENYAWA SAPONIN DARI  
BATANG TANAMAN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi* Linn)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**MARIA FARADISA**

**NIM: 03530013**

**Disetujui oleh:**

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Pembimbing III**

**Himmatul Barroroh, M.Si**  
**NIP. 150 327 246**

**Ach. Nashichuddin, MA**  
**NIP. 150 302 531**

**Elok Kamilah H., M.Si**  
**NIP. 150 377 253**

**Mengetahui**  
**Ketua Jurusan Kimia**

**Diana Candra Dewi, M.Si**  
**NIP. 150 327 251**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**UJI EFEKTIFITAS ANTIMIKROBA SENYAWA SAPONIN DARI  
BATANG TANAMAN BELIMBING WULUH (*Averrhoa Bilimbi* Linn)**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MARIA FARADISA  
NIM: 03530013**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan  
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Tanggal April 2008**

	<b>Susunan Dewan Penguji:</b>	<b>Tanda Tangan</b>
<b>1. Penguji Utama</b>	<b>: Eny Yulianti, M.Si NIP. 150 368 797</b>	( )
	<b>: Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 150 368 798</b>	( )
<b>2. Ketua Penguji</b>	<b>: Himmatul Barroroh, M.Si NIP. 150 327 246</b>	( )
<b>3. Sekr. Penguji</b>	<b>: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 150 377 253</b>	( )
<b>4. Anggota penguji</b>	<b>: Ach Nashichuddin, MA NIP. 150 302 531</b>	( )

**Mengetahui dan Mengesahkan  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi**

**Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, SU., D.Sc  
NIP. 130 809 123**



# Persembahan

*Skripsi ini kupersembahkan untuk Ayahandaku Moch Ishak dan Ibundaku Sun Avia, serta adek-adekku tersayang Zakiyatul Islamiyah, Kays Iwanullah, Muhammad Rizallulhaq dan Fatimatuz Zahro, seseorang yang selalu mendampingi disetiap langkahku, Dimas Nasrul Fitroh, S.E U Is The Best*

*I Love U Forever... God Bless U*



## *Ucapan Terima Kasih*

*Atas terselesainya skripsi ini tidak luput dari bantuan banyak pihak, karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :*

## **Special Thank To Counselor Lecture**

*Thank you Mother Elok Kamilah H, M.Si, which during the time guide and assist me. Forgive by mistake which I conduct, so that make angry mother, I get science which a lot of from mother, hopefully given science can be useful. Mother I pray success in work, Hopefully in life mother, especially in life of family all given health, portion and always in the infinite haven. I like can meet mother. Find again?!*

*U very the best save to work, good luck mother.....god bless u*

## *Thank to my friend*

*Sahabatku yang satu ini Emank baik n berjasa bgt, lilik Rahmarwati trimakasih ya atas bantuan k-mu, aq doain k-mu bisa menyelesaikan skripsi dengan cepat n lancer... pesang jadilah anak yang sholehah.*

## *Thanks to Everybody*

- ♥ *Buat teman-teman kimia angkatan 2003, terima kasih karena kalian telah mau berjuang bersama saya selama kita masuk kuliah. Bagi teman-teman yang belum lulus, ayo semangat... jangan pernah menyerah kalian pasti bisa.*
- ♥ *Buat adek-adek semester barwa, terima kasih dukungan kalian. Rajin belajar ya biar cuwepet lulus*

## *Special Thanks to Dweller with Board*

*Untuk Ank2 kos Joyosuko timur 86 Sampai jumpa, Selamat Berjuang Kawan, cepetan lulus! Terutama buat wira, terima kasih buat pinjaman printernya ya....Good luck! Jangan lupa ma aq yach...Nbuat Bpk n Ibu kos, **surwon**...*



## **MOTTO**

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنْ دَاءٍ إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya : “Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit melainkan Allah SWT juga menurunkan obatnya”. (HR. Bukhori, no. 5678, dan Ibnu Majah, no.

3438-3439)



## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT karena atas berkah dan rahmat-Nya, maka penyusun dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*)”**.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi tugas akhir mahasiswa jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang, sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana (Strata-1) Kimia.

Pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, terutama kepada :

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor UIN Malang.
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, SU., D.Sc selaku Dekan Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Malang.
3. Ibu Diana Candra Dewi, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia.
4. Ibu Himmatul Barroroh, M.Si, Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si dan Bpk Ach. Nashichuddin, M.A selaku pembimbing.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini memberikan kontribusi positif bagi berkembangnya dunia intelektual.

Malang, 18 April 2008

Maria Faradisa

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I : PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.4. Batasan Masalah .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II : TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1. Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi L.</i> ).....	6
2.2. Terpenoid .....	8
2.3. Saponin.....	9
2.4. Tinjauan Umum <i>Staphylococcus Aureus</i> dan <i>Escherichia Coli</i> ..	13
2.4.1. Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> .....	13
2.4.2. Bakteri <i>Escherichia Coli</i> .....	14
2.5. Tumbuhan Obat Dalam Pandangan Islam.....	15
2.6. Tehnik Pemisahan Senyawa Aktif .....	20
2.6.1. Ekstraksi .....	20

2.6.2. Fourier Transform Infrared (FTIR).....	22
2.6.3. Uji Efektifitas Saponin sebagai Antibakteri.....	24

### **BAB III : METODOLOGI PENELITIAN**

3.1. Waktu dan Tempat.....	28
3.2. Alat dan Bahan Penelitian.....	28
3.2.1 Ekstraksi.....	28
3.2.2. Identifikasi menggunakan FTIR .....	28
3.2.3. Uji Efektivitas Antibakteri.....	29
3.4. Rancangan Penelitian.....	29
3.5. Metode Penelitian .....	30
3.5.1. Preparasi Sampel.....	30
3.5.2. Uji Kualitatif .....	31
3.5.2.1. Uji Busa.....	31
3.5.3. Ekstraksi Saponin .....	31
3.5.4. Identifikasi Senyawa Saponin Pada Belimbing Wuluh dengan FTIR .....	32
3.5.5. Uji Efektivitas Antimikroba.....	32
3.5.5.1. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	32
3.5.5.2. Pembuatan Media.....	33
3.5.5.3. Peremajaan Biakan murni bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. Coli</i> .....	33
3.5.5.4. pembuatan larutan bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. Coli</i> .....	33
3.5.5.5. Uji Aktivitas Mikrobia.....	33

### **BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1. Kandungan Saponin dalam Batang <i>Averrhoa Bilimbi</i> Linn.....	35
4.2. Kadar Ekstrak Saponin Hasil Isolasi Dalam Batang Belimbing Wuluh.....	35
4.3. Identifikasi Senyawa Saponin dengan Spektrofotometer FTIR..	38
4.4. Hasil Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Senyawa Saponin dari Belimbing Wuluh.....	42

4.5. Pemanfaatan Saponin dari Belimbing Wuluh dalam Perspektif Islam.....	49
---	----

**BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan .....	52
5.2. Saran.....	53

**DAFTAR PUSTAKA**

**LAMPIRAN**



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1. Perbedaan Relatif Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.....	15
Tabel 2.2. Bilangan Gelombang dan Jenis Vibrasi Saponin dari <i>Hedera Helix</i> dan <i>Aralia Elata</i> .....	24
Tabel 4.1. Kadar Ekstrak Kasar Saponin Dari Batang Belimbing Wuluh.....	36
Tabel 4.2. Serapan FTIR Senyawa Saponin dari batang belimbing wuluh ( <i>Averrhoa Bilimbi</i> Linn).....	39
Tabel 4.3. Uji efektivitas senyawa saponin pada bakteri <i>staphylococcus aureus</i> dan <i>eschericia coli</i> .....	43
Tabel 4.4. Daftar Ukuran Daerah Hambatan Pelbagai Antibiotika Dan Khemoterapetika .....	44

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Belimbing Wuluh .....	7
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Terpenoid.....	8
Gambar 2.3 Senyawa Saponin .....	10
Gambar 2.4 Struktur Umum Saponin Dalam <i>Ginseg sp.</i> .....	11
Gambar 2.5 Struktur Saponin Triterpenoid <i>Hedera Helix</i> .....	21
Gambar 2.6 Struktur Saponin Triterpenoid <i>Aralia Elata</i> .....	22
Gambar 4.1. (a) Spektra FTIR Saponin dari belimbing wuluh ( <i>Averrhoa Bilimbi</i> Linn) .....	38
Gambar 4.1. (b) Spektra IR Isolate 1 Saponin Pada Akar Kedondong <i>Laut</i> ..	38
Gambar 4.2. Grafik Zona Hambat Ekstrak Kasar Saponin pada Bakteri <i>S. Aureus</i> Dan <i>E. Coli</i> .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. : Skema Kerja Penelitian .....	58
Lampiran 2. : Penempelan Cakram.....	62
Lampiran 3 : Perbandingan Nilai Konsentrasi / Kadar Ekstrak dan Kontrol Positif.....	63
Lampiran 4. : Pembuatan Reagen Uji Pendahuluan.....	65
Lampiran 5. : Daftar Ukuran Daerah Hambatan Pelbagai Antibiotika dan Khemoterapetika .....	66
Lampiran 6. : Spektra IR Senyawa Saponin pada Akar Kedondong Laut... 67	
Lampiran 7. : Spektra FTIR Saponin Hasil Sintesis dari batang belimbing wuluh ( <i>Averrhoa Bilimbi</i> Linn).....	69
Lampiran 8. : Data Pengamatan Penelitian.....	70
Lampiran 9. : Kadar Ekstrak Saponin Pada Batang Belimbing Wuluh .....	74
Lampiran 10. : Zona Hambat Ekstrak Saponin dari Batang Belimbing Wuluh.....	75
Lampiran 11. : Gambar-gambar Hasil Pengamatan.....	77

## ABSTRAK

Faradisa, Maria. 2008. **Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*)**.

**Pembimbing I : Himmatul Barroroh, M.Si**

**Pembimbing II : Ach. Nashichuddin, MA**

**Pembimbing III : Elok Kamilah Hayati, M.Si**

Tumbuhan belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi linn*) merupakan tumbuhan obat. Di dalam batangnya mengandung senyawa saponin yang mempunyai manfaat sebagai spermisida (obat kontrasepsi laki-laki); antimikrobia, anti peradangan, dan aktivitas sitotoksik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas antimikroba dari ekstrak saponin dalam batang belimbing wuluh.

Isolasi senyawa saponin dilakukan dengan metode ekstraksi bertahap menggunakan metanol, dietil eter dan n-butanol. Ekstrak yang diperoleh diuji secara kualitatif dengan uji busa, dianalisis dengan spektrofotometer FTIR dan diuji efektifitas antimikroba terhadap bakteri *s. aureus* dan bakteri *e. coli* dengan metode difusi cakram.

Dari uji kualitatif dengan uji busa yang memberikan tinggi busa 1 cm menunjukkan bahwa batang belimbing wuluh mengandung senyawa saponin. Kadar ekstrak kasar dari proses ekstraksi diperoleh 0,35 % b/b. Hasil analisis spektra FTIR diduga terdapat gugus -OH dari glukosa, C-O dari alkohol, C=O alifatik, C=C tak terkonjugasi dan gugus -CH, -CH<sub>2</sub> dan CH<sub>3</sub> yang diduga kuat milik saponin. Dari uji antimikroba ekstrak kasar saponin dari batang belimbing wuluh memberikan zona hambat terhadap biakan bakteri *staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100 mg/mL sampai dengan 1000 mg/mL adalah sebagai berikut : 0; 0,4; 0,8; 1,3; 2,8; 3,8; 4,3; 5,8; 2,3; dan 4 (mm). Sedangkan zona hambat terhadap biakan bakteri *escherichia coli* adalah 0; 0; 0,5; 2,5; 2,5; 2,5; 2,75; 4,25; 5,5; dan 6,75 (mm) pada rentang konsentrasi yang sama. Ekstrak kasar saponin dari batang belimbing wuluh hasil penelitian ini, memiliki efektivitas antimikroba terhadap bakteri *staphylococcus aureus* maupun bakteri *escherichia coli* dalam kategori resisten, apabila dibandingkan dengan antibiotik standar.

**Kata Kunci** : Saponin, Antimikroba, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, Kadar Hambat Minimum (KHM).

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tanaman obat telah memberikan sumbangan yang sangat penting terhadap dunia kesehatan baik secara individual maupun kolektif. Tanaman obat mengandung bahan aktif penting terutama dari senyawa metabolit sekunder dengan struktur-struktur yang unik dan bervariasi, yang dikembangkan lebih jauh dengan meninjau hubungan gugus aktif senyawa dengan reseptor penyakit dalam tubuh. Senyawa bahan alam dalam tanaman telah menyumbang sekitar 40% dari bahan obat (Edeoga, 2005).

Secara umum metabolit sekunder dalam bahan alam hayati, berdasarkan sifat dan reaksi khasnya dengan pereaksi tertentu, terdiri dari alkaloid, terpenoid atau steroid, flavonoid, fenolik, saponin dan kumarin. Akan tetapi sampai saat ini, pemanfaatan tanaman obat ini masih belum optimal. Pemanfaatannya hanya sebatas pengalaman secara tradisional dan masih belum mendalam terhadap komponen aktif yang terkandung secara farmakologis. Salah satu senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman adalah saponin, senyawa ini banyak terdapat di hampir sebagian besar tumbuhan.

Secara farmakologis senyawa saponin bermanfaat sebagai spermisida (obat kontrasepsi laki-laki); antimikrobia, anti peradangan, dan aktivitas sitotoksik (Purnobasuki, 1998).

Samukawa, *et.al.* (1995) menjelaskan bahwa jenis tanaman yang termasuk dalam famili ginseng mengandung paling banyak senyawa triterpenoid, terutama senyawa saponin. Saponin merupakan senyawa aktif fitosterol yang dapat bereaksi dengan kolesterol yang bersifat patogen dalam tubuh, dan saponin merupakan faktor alami kekebalan tubuh yang dapat memicu pertumbuhan bakteri baik dan menyerang racun dalam usus besar. Konsumsi saponin alami dapat mengurangi frekuensi demam dan flu yang disebabkan oleh virus.

Penelitian Gusdinar (2006) yang mengisolasi saponin dari buah *averrhoa carrambola* linn dengan menggunakan prinsip dehidrasi buah segar dan perkolasi dengan pelarut etanol 95%, dilanjutkan dengan ekstraksi dengan n-butanol dan pengendapan dalam eter. Hasil isolasi berupa serbuk saponin amorf berwarna coklat dan sangat higroskopik.

Suatu penelitian dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa yang terkandung dalam tumbuhan maupun hewan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia itu sendiri dalam memenuhi kebutuhannya. Kita diperintahkan untuk selalu berpikir dan mencari sesuatu yang belum kita ketahui manfaat dan bahayanya, baik itu benda mati maupun makhluk hidup seperti hewan dan tumbuhan yang di muka bumi ini, karena sebenarnya Allah SWT menciptakan semuanya supaya kita bersyukur kepada-Nya, seperti yang dijelaskan di dalam firman-Nya surat Ar-Rad ayat 4:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَبَّرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَعَبَرٌ  
صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفْضِلٌ بَعْضُهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ ۗ إِنَّ فِي  
ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٠٠﴾

Artinya : "Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir".

Salah satu tanaman yang dikenal cukup baik oleh masyarakat Indonesia adalah belimbing wuluh. Sejauh ini belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi linn*) sering dimanfaatkan sebagai bahan campuran untuk makanan tradisional karena buahnya yang asam. Bunganya memiliki berbagai macam kasiat obat yang sangat membantu, seperti obat batuk, pegal linu, rematik, sariawan, jerawat, darah tinggi, sakit gigi dan lain-lain (Salsa, 2003).

Salah satu bagian dari tanaman yang belum dimanfaatkan secara farmakologi sebagai bahan obat adalah batang belimbing wuluh, yang diduga mengandung berbagai metabolit sekunder salah satunya adalah senyawa saponin yang mempunyai potensi sebagai antibakteri. Belum ada bukti ilmiah apakah senyawa saponin pada batang belimbing wuluh dapat digunakan sebagai antibakteri.

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan suatu penelitian untuk mendapatkan dasar teoritis dan bukti-bukti ilmiah tentang pemanfaatan batang belimbing wuluh sebagai obat antimikroba dengan cara menguji efektivitas

senyawa saponin hasil ekstrak batang belimbing wuluh terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan untuk mengisolasi senyawa saponin dalam penelitian ini didasarkan pada metode hasil modifikasi Song, *et.al.* (2001) yaitu dengan menggunakan metode maserasi menggunakan metanol 80 %, kemudian diidentifikasi menggunakan FTIR.

### **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah di atas maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah :

1. Berapa kadar ekstrak kasar saponin hasil isolasi dalam batang belimbing wuluh?
2. Bagaimana spektra FTIR ekstrak kasar saponin hasil isolasi dari batang belimbing wuluh?
3. Apakah ekstrak kasar saponin hasil isolasi dari batang belimbing wuluh memiliki kemampuan sebagai antimikroba?
4. Berapa konsentrasi minimum ekstrak kasar saponin hasil isolasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *s. aureus* dan *e. coli*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui berapa kadar ekstrak kasar saponin hasil isolasi dalam batang belimbing wuluh.
2. Untuk mengetahui spektra FTIR ekstrak kasar saponin hasil isolasi dari batang belimbing wuluh.

3. Untuk mengetahui apakah ekstrak kasar saponin hasil isolasi dari batang belimbing wuluh memiliki kemampuan sebagai antimikroba.
4. Untuk mengetahui berapa konsentrasi minimum ekstrak kasar saponin hasil isolasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *s. aureus* dan *e. coli*.

#### **1.4. Batasan Masalah**

Adapun batasan masalah pada penelitian ini adalah:

Tanaman yang digunakan adalah batang belimbing wuluh dengan diameter 1–3,5 cm yang berwarna coklat dari daerah Tlogo Indah-Dinoyo-Malang.

#### **1.5. Manfaat Penelitian**

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang manfaat dari salah satu senyawa yang terkandung dalam batang belimbing wuluh khususnya senyawa saponin yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif menyembuhkan diare yang efektif dan efisien serta aman dan cukup murah tetapi tetap berorientasi pada standar pelayanan kesehatan yang sudah ada.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Tanaman belimbing wuluh yang diperkirakan berasal dari kepulauan Maluku, dan dikembangkan serta tumbuh bebas di beberapa negara seperti di Indonesia, Filipina, Sri Lanka dan Myanmar. Buahnya memiliki rasa asam dan sering digunakan sebagai bumbu masakan (Anonymous , 2005).

Belimbing wuluh mempunyai batang kasar berbenjol-benjol, percabangan sedikit, arahnya condong ke atas. Cabang muda berambut halus seperti beludru, warnanya coklat muda. Daun berupa daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai jorong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1-3 cm, warnanya hijau, permukaan bawah hijau muda. Perbungaan berupa malai, berkelompok, keluar dari bunga atau percabangan yang besar, bunga kecil-kecil berbentuk bintang warnanya ungu kemerahan. Buahnya berbentuknya bulat lonjong bersegi, panjang sekitar 4-6,5 cm, warnanya hijau kekuningan, bila masak berair banyak, rasanya asam. Biji bentuknya bulat telur, gepeng. (Dalimartha, S., dkk, 2005).

Taksonomi tanaman belimbing wuluh adalah sebagai berikut (Anonymous, 2005):

Kerajaan : Plantae  
Division : Magnoliophyta – tanaman bunga

Sub division : angiospermae  
Klas : Magnoliopsida -dikotil  
Ordo : Oxalidales  
Familia/suku : Oxalidaceae  
Genus/marga : Averrhoa  
Spesies/jenis : *A. Bilimbi* Linn.  
Nama Binomial : *Averrhoa bilimbi* Linn.



Gambar 2.1. Tanaman Belimbing Wuluh (Anonymous, 2005).

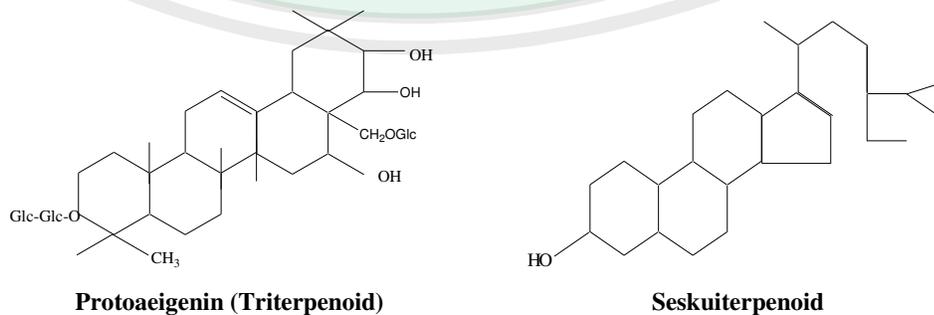
Belimbing wuluh banyak mengandung senyawa-senyawa kimia yang bermanfaat untuk menyembuhkan beberapa penyakit. Sifat kimiawi dan efek farmakologis pada belimbing wuluh antara lain menghilangkan rasa sakit

(analgetik), memperbanyak pengeluaran empedu, antiradang, peluruh kencing, astringent (Dalimartha, S., dkk, 2005).

Beberapa kandungan kimia pada batangnya yaitu saponin, tanin, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, peroksidase dan kandungan kimia pada daun yaitu tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, kalium sitrat (Dalimartha, S., dkk, 2005).

## 2.2. Terpenoid

Terpenoid atau isoprenoid merupakan salah satu senyawa organik yang banyak tersebar di alam, yang terbentuk dari satuan isoprene ( $\text{CH}_3=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ ). Senyawa terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon yang dibedakan berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, kelompok metil dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson, 1995). Berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya terpenoid dibagi menjadi beberapa golongan yaitu monoterpena ( $\text{C}_{10}$ ) dan seskuioterpena ( $\text{C}_{15}$ ) yang mudah menguap, diterpena ( $\text{C}_{20}$ ) sukar menguap, triterpenoid dan sterol ( $\text{C}_{30}$ ) tidak menguap serta pigmen karotenoid ( $\text{C}_{40}$ ) (Harbourne, 2002).



**Protoaeginin (Triterpenoid)**

**Seskuioterpenoid**

Gambar 2.2. Struktur Senyawa Terpenoid (Harbourne, 2002 )

Terpenoid banyak ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi sebagai minyak atsiri yang memberi bau harum dan bau khas pada tumbuhan dan bunga. Selain itu terpenoid juga terdapat dalam jamur, invertebrata laut dan feromon serangga. Sebagian besar terpenoid ditemukan dalam bentuk glikosida atau glikosil ester (Thomson, 2004).

Terpenoid dari tumbuhan, biasanya digunakan sebagai senyawa aromatik yang menyebabkan bau pada *eucalyptus*, pemberi rasa pada kayu manis, cengkeh, jahe dan pemberi warna kuning pada bunga. Terpenoid tumbuhan mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, antibakteri, antijamur dan gangguan kesehatan (Thomson, 2004).

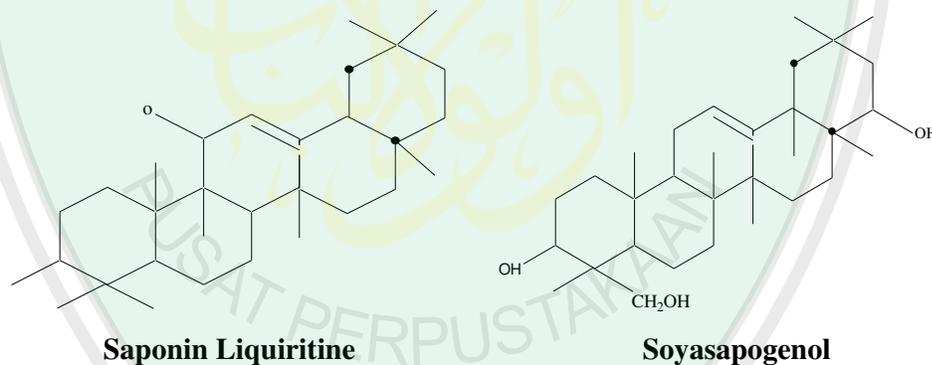
### **2.3. Saponin**

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah glikosida, yaitu metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam, terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Cheeke, 2004).

Larutan saponin yang sangat encer sangat beracun untuk ikan, dan tumbuhan yang mengandung saponin telah digunakan sebagai racun ikan selama beratus-ratus tahun (Robinson, 1995). Busa yang ditimbulkan saponin karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air. Saponin mempunyai rasa pahit,

dapat mengadsorpsi Ca dan Si dan membawanya dalam saluran pencernaan. Sebagian besar berupa glikosida yang dapat mengikat satu (monodesmosida), dua (bidesmosida) atau tiga (tridesmosida) rantai glukosa dan aglikonnya yang mengikat gugus fungsi  $-OH$ ,  $-COOH$  dan  $-CH$  (Oleszek, 2002).

Saponin dibedakan sebagai saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin triterpenoid umumnya tersusun dari sistem cincin oleanana atau ursana. Glikosidanya mengandung 1-6 unit monosakarida (glukosa, galaktosa, ramnosa) dan aglikonnya disebut sapogenin, mengandung satu atau dua gugus karboksil. Saponin dapat menghemolisis sel darah merah, sedangkan saponin steroid mempunyai gugus gula lebih sedikit tidak dapat menghemoisis sel darah merah. Sapogenin steroid spirostanol tidak mengikat gugus karboksil (Louis, 2004).

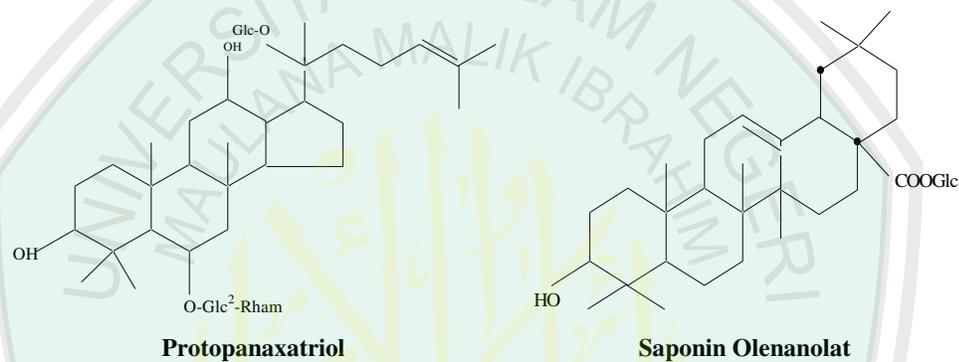


Gambar 2.3. Senyawa Saponin (Louis, 2004)

Kedua jenis saponin larut dalam air dan alkohol tetapi tidak larut dalam eter. Aglikonnya disebut sapogenin yang diperoleh dengan hidrolisis dalam suasana asam atau memakai enzim. Beberapa sapogenin steroid berbeda karena mempunyai sambungan cincin A/B cis. Saponin steroid paling umum ditemukan

dalam keluarga *liliceae*, *amaryllidaceae* dan *dioscoreceae*. Semua anggota golongan saponin teroksigenasi pada C-2, C-23 dan C-28 (Robinson, 1995).

Samukawa, *et.al.* (1995) menjelaskan sebagian besar spesies ginseng mempunyai komposisi dan struktur kimia yang hampir sama yaitu senyawa mayor triterpenoid terutama saponin triterpenoid sebagai cincin damaran protopanaxadiol dan cincin olenana.



Gambar 2.4. Struktur Umum Saponin Dalam Ginseng sp. (Samukawa, *et.al.*, 1995)

Jasmansyah (2002) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa isolasi saponin dan triterpenoid sapogenin dari tanaman dilakukan dengan soxletasi dan ekstraksi menggunakan pelarut etanol yang dilanjutkan dengan pemisahan dan pemurnian dengan ekstraksi pelarut dan rekristalisasi. Kemudian saponin dihidrolisis dengan HCl 2 N. Berdasarkan identifikasi dengan spectrum UV-Visibel dan FTIR menunjukkan bahwa senyawa saponin mengandung gugus hidroksil, ester, eter, karboksil dan ikatan rangkap tak berkonjugasi (Robinson, 1995).

Saponin dalam tumbuhan mempunyai tiga keunikan yang sangat berperan bagi kesehatan. Saponin merupakan “rangkaiian kolesterol asam empedu” yang

mempunyai kemampuan berikatan dengan kolesterol dan senyawa patogen, kemudian mereduksinya dalam saluran pencernaan. Saponin ini merupakan faktor alami kekebalan tubuh dan antibodi yang lebih efisien dalam mengurangi peradangan hati, memicu sistem kekebalan tubuh untuk menurunkan frekuensi demam, flu, sembelit dan infeksi pencernaan yang disebabkan jamur dan kapang. Molekulnya bekerja dalam saluran pencernaan tetapi tidak bereaksi dan mengganggu metabolisme tubuh. Saponin dapat mendorong pertumbuhan bakteri baik dan mereduksi bakteri yang berbahaya dalam tubuh hewan dan manusia (Anonymous, 2005). Beberapa jenis saponin bekerja sebagai antimikroba (Robinson, 1995, hal 157).

Beberapa jenis saponin dan turunannya dari daun-daunan pada tanaman kebun digunakan untuk mengobati penyakit jantung. Saponin akan memperkuat kontraksi otot jantung sehingga dapat bekerja lebih efisien pada penderita serangan jantung, saponin menyebabkan keracunan pada dosis tinggi yang biasa digunakan untuk pelumas racun pada panah dan tombak oleh penduduk afrika dan suku Indian di Amerika selatan (Clark, 2004).

### **2.3.1. Sifat-Sifat Saponin**

- 1) Berasa pahit.
- 2) Berbusa dalam air.
- 3) Mempunyai sifat detergen yang baik.
- 4) larut dalam air dan alkohol dan tidak larut dalam eter
- 5) Mempunyai aktivitas haemolisis, merusak sel darah merah.

- 6) Tidak beracun bagi binatang berdarah panas.
- 7) Mempunyai sifat anti eksudatif.
- 8) Mempunyai sifat anti inflamatori

## **2.4. Tinjauan Umum *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli***

### **2.4.1. Bakteri *Staphylococcus Aureus***

Berdasarkan taksonomi, *staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (warsa, 1994):

- Dominio : *Prokaryota*
- Regnum : *Eubacteria*
- Phyllum : *Posibateriobionta*
- Classis : *Micrococcaea*
- Ordo : *Micrococcales*
- Family : *Micrococcaceae*
- Genus : *Staphylococcus*
- Spesies : *Staphylococcus Aureus*

Beberapa jenis *staphylococcus* tumbuh dengan baik dalam kaldu biasa pada suhu 37 °C. Pertumbuhan terbaik dan khas ialah pada suasana aerob, bakteri ini juga bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,4. Pada lempeng agar, koloni yang dihasilkan berbentuk bulat, cembung, buram, mengkilat, dan konsistensinya lunak. Koloni dari

*staphylococcus aureus* berwarna kuning keemasan (Syahrurachman dkk, 1993).

*S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus dengan diameter 0,7-0,9  $\mu\text{m}$ , membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk tumbuh serta bersifat anaerobik fakultatif. *s. aureus* bersifat termodurik, dengan kisaran suhu pertumbuhan antara 5-50  $^{\circ}\text{C}$ . Bakteri ini dapat ditemukan pada kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir (Fardiaz, 1993).

#### 2.4.2. Bakteri *Escherichia Coli*

Berdasarkan taksonomi *Escherichia coli*, dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Prescott, *et.al.*, 2002):

- Kingdom : *Bakteria*
- Phylum : *Proteobacteria*
- Classis : *Y. Proteobacteria*
- Ordo : *Enterobacteriales*
- Family : *Enterobacteriaceae*
- Genus : *Escherichia*
- Spesies : *Escherichia Coli*

*Escherichia coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa digunakan pada isolasi kuman enterik dalam keadaan mikroaerofilik. Beberapa strain bila ditanam pada agar darah menunjukkan hemolisis tipe beta (Syahrurachman dkk, 2003). Koloni yang tumbuh berbentuk bundar, cembung, halus dengan tepi yang nyata (Jawet *et.al*, 1996). Koloni bakteri

pada media diferensial agar *eosin methylen blue* (EMB) membentuk morfologi koloni seperti kilatan logam (*metallic sheen*) (Dzen, dkk, 2003).

*Eschericia coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang lurus dengan ukuran 1,1-1,5  $\mu\text{m}$ , kisaran pertumbuhan (suhu 8  $^{\circ}\text{C}$  sampai lebih dari 40  $^{\circ}\text{C}$ ), suhu pertumbuhan optimum pada 37  $^{\circ}\text{C}$ , mudah tumbuh pada pembenihan sederhana, dan banyak ditemukan dalam usus mamalia. Bakteri ini adalah penyebab diare dan biasa digunakan untuk uji kepekaan karena merupakan golongan yang resisten terhadap antibiotik (Staley, dkk., 1994).

Tabel 2.1. Perbedaan Relatif Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Sifat	Perbedaan Relatif	
	Bakteri Gram Positif	Bakteri Gram Negatif
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi (11-22%)
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitif	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa. Contoh violet, kristal	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrisi	Kebanyakan spesies relatif kompleks	Kebanyakan spesies relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

Sumber : Pelczar dan Chan, 1986

## 2.5. Tumbuhan Obat dalam Pandangan Islam

Allah SWT sebagai Tuhan mempunyai tanda-tanda ketuhanan-Nya berupa hasil-hasil ciptaan-Nya, berupa langit dan bumi dan apa yang ada di dalam keduanya, apa yang ada di antara keduanya. Termasuk juga kejadian-kejadian yang berlangsung dalam makhluk-Nya tersebut. Kemudian Allah SWT menyuruh

untuk memikirkan tanda-tanda kekuasaan-Nya tersebut, termasuk pada tanaman dan tumbuhan (As-Sa'dy, A.R., 2007).

Dunia pengobatan semenjak dahulu selalu berjalan seiring dengan kehidupan umat manusia. Karena sebagai makhluk hidup, manusia amatlah akrab dengan berbagai macam penyakit ringan maupun berat. Keinginan untuk terlepas dari segala jenis penyakit itulah yang mendorong manusia untuk membuat upaya menyingkap berbagai metode pengobatan, mulai dari mengkonsumsi berbagai jenis tumbuhan secara tunggal maupun yang sudah terkomposisikan yang diyakini berkasiat menyembuhkan jenis penyakit tertentu (Al-Jauziyah, I.Q., 2007).

Pengobatan dari Nabi SAW memang berbeda dengan ilmu medis para dokter pada umumnya. Pengobatan Nabi bersifat pasti dan absolut karena informasi pengobatannya berasal dari wahyu Allah SWT, bernilai kedokteran Ilahi, serta kesempurnaan intelegensi kenabian. Rasulullah SAW pernah menyebutkan bahwa tumbuhan herbal sebagai obat yang baik untuk digunakan. Tumbuhan herbal merupakan tumbuhan obat yang memang sangat berguna untuk membuang lemak dan racun-racun dalam tubuh manusia. Produk tumbuhan herbal banyak digunakan oleh kedokteran untuk mengurangi lemak berlebih penyebab obesitas dan menyembuhkan berbagai penyakit (Barazing, 2007).

Beberapa tumbuhan herbal yang sering digunakan oleh Rasulullah SAW untuk menyembuhkan beberapa penyakit antara lain madu, jintan hitam, air mawar, cuka buah, kurma, delima, bawang putih dan berbagai jenis makanan lainnya.

**a) 'Ajwa (Kurma Ajwa)**

Kurma adalah buah, makanan, obat, minuman sekaligus gula-gula. Kurma dapat menguatkan lever, melunakkan buang air besar, menyembuhkan radang tenggorokan, dan menambah stamina bila dicampur dengan kayu cemara.

Dalam *Shahih Al-Bukhari* dan *Muslim* diriwayatkan hadist Saad bin Abi Waqqash, dari Nabi SAW bersabda :

من تصبح بسبع تمرات عجوة, لم يضره ذلك اليوم سم ولا سحر.

Artinya : “barang siapa mengkonsumsi tujuh butir kurma ajwa pada pagi hari, maka pada hari itu ia tidak akan terkena racun ataupun sihir.”

Dalam *Sunan An-Nasa'i* dan *Ibnu Majah* dari hadist Jabir dan Abu Said, bahwa Nabi SAW bersabda :

العجوة من الجنة, وهي شفاء من السم. والكمأة من المن, وماؤها شفاء للعين.

Artinya : “kurma ajwa itu berasal dari surga. Ia adalah obat dari racun, seperti jamur truffle, airnya adalah obat penyakit mata.”

Hadist di atas menjelaskan bahwa kurma *ajwa* al-madinah dikenal sebagai kurma hijaz terbaik secara mutlak. Bentuknya amat baik, padat, agak keras dan kuat, namun termasuk kurma yang paling lezat, paling harum dan paling empuk. Kurma ajwa berkasiat untuk menolak racun dan sihir (Al-Jauziyah, I.Q., 2007).

**b) Habbatus Sauda' (Jinten Hitam)**

Diriwayatkan dalam *Shahih Al-Bukhari* dan *Muslim* dari hadist Abu Salamah, dari Abu Hurairah, bahwa Rasullulah SAW bersabda :

عليكم بهذه الحبة السوداء, فإن فيها شفاء من كل داء, إلا السام.

*Artinya : “hendaknya kalian mengkonsumsi jinten hitam. Karena jinten hitam mengandung obat untuk segala penyakit, kecuali as-saam.”*

Arti sabda Nabi SAW ‘obat dari segala jenis penyakit’, seperti firman Allah, “menghancurkan segala sesuatu dengan perintah Rabb-nya.” Yakni segala sesuatu yang bisa hancur. Jinten hitam memang berkasiat mengobati segala penyakit panas. *Syuwainiz* berkasiat menghilangkan gas, mengatasi kebotakan, mengobati kusta, demam yang disertai batuk berdahak, mengeringkan lambung yang basah dan lembab, menghancurkan batu ginjal, memperlancar air seni, haid dan ASI bila diminum tiap hari, mengeluarkan cacing, dan membunuh bakteri dan lain-lain (Al-Jauziyah, I.Q., 2007).

**c) Rumman (Delima)**

Allah SWT berfirman dalam surat Ar-Rahman ayat 68:

فِيهَا فِكْهَةٌ وَنَخْلٌ وَرُْمَانٌ ﴿٦٨﴾

*Artinya : “Di dalam keduanya ada (macam-macam) buah-buahan dan kurma serta delima.”*

Delima yang manis amat baik untuk lambung, mengobati sakit tenggorokan, batuk, dada dan paru-paru. Biji delima yang dicampur madu, amat berguna mengobati penyakit *agnail* dan koreng atau eksim basah, bahkan bisa menyembuhkan luka yang berdarah. Sebagian kalangan medis menyatakan, “barang siapa mengkonsumsi tiga putik delima setiap tahun, ia

akan selamat dari penyakit mata dalam satu tahun penuh.” (Al-Jauziyah, I.Q., 2007).

Banyak dari contoh-contoh tumbuhan yang sejak zaman Nabi sudah dipakai untuk mengobati beberapa penyakit. Surat Al-Rad ayat 4, yang berbunyi:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَبِّرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَغَيْرُ  
صِنَوَانٍ يُسْقَى بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِضَ لُبَّهَا عَلَى بَعْضِ فِي الْأُكُلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ  
لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿٤﴾

Artinya : “Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir” (Qs. Ar-Rad :4)

Berdasarkan ayat di atas Allah SWT mencontohkan tanaman anggur dan kurma meskipun berada di tempat dan diberi air yang sama, Allah SWT melebihkan dengan rasanya. Kedua tanaman tersebut dilebihkan rasanya dan sekaligus kandungan senyawa aktifnya, misalnya pohon kurma mengandung senyawa aktif 60% pengganti gula, protein, pektin, tanin, tajin dan lemak. Manfaat kurma sebagai penawar racun, menyuburkan kandungan dan lain-lain, sedangkan anggur manfaatnya adalah memudahkan buang air besar, menggemukkan badan dan bergizi (Farooqi, M.I.H., 2005).

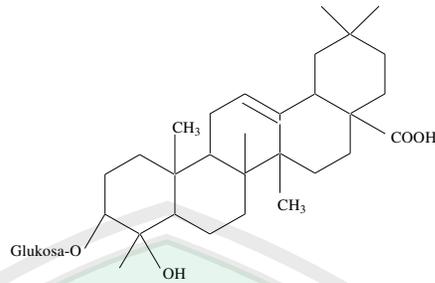
## **2.6. Tehnik Pemisahan Senyawa Aktif**

### **2.6.1. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Brian, 1989). Pada metode ekstraksi bahan alam dikenal suatu metode maserasi yaitu metode perendaman. Penekanan utama dalam metode ini adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dengan jaringan tanaman yang diekstraksi (Guenther, 1987).

Senyawa glikosida seperti saponin tidak larut dalam pelarut nonpolar. Senyawa ini paling cocok diekstraksi dari tumbuhan memakai etanol atau metanol 70-95% (Robinson, 1995). Hostetman (1995) menjelaskan bahwa metode maserasi tanaman yang mengandung senyawa hidrofil seperti saponin, dapat menggunakan pelarut seperti air, petroleum eter, kloroform dan etanol berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksinasi ekstrak dengan metanol menghasilkan saponin bidesmoside sedangkan ekstraksi langsung dengan air menghasilkan saponin monodesmoside.

Pada isolasi saponin lipid dan pigmen harus dihilangkan sebelum pemekatan dengan mencuci ekstrak dengan eter minyak bumi, eter, benzena atau dengan pengendapan menggunakan timbal hidroksida, sehingga pada pemekatan ekstrak etanol, klorofil dan lipid tidak melekat pada dinding labu (Harbourne, 2002).

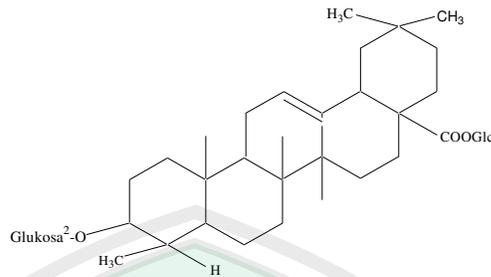


### 3-O-Glukopiranosil hederagenin

Gambar 2.5. Struktur Saponin Triterpenoid *Hedera Helix* (Bedir, *et.al.*, 2002 dalam Kristianingsih, 2005)

Bedir, *et.al.* (2000) telah menentukan keberadaan saponin triterpenoid dalam bunga *hedera helix* yang termasuk spesies *aralicae* dengan melakukan maserasi menggunakan metanol selama 4 jam pada temperatur 25 °C terhadap sampel kering. Huan, *et.al* (1998) dalam penelitiannya mengatakan isolasi triterpenoid saponin dalam bunga dan akar *polyscias sp* dengan ekstraksi bertahap menggunakan metanol 80 % selama ± 24 jam selanjutnya disuspensi dengan air, dicuci dietil eter dan diekstraksi dengan n-butanol.

Song, *et.al.* (2001) telah mengisolasi dan mengidentifikasi saponin dari akar *Aralia elata* yang dimaserasi dengan menggunakan metanol selama 4,7 jam pada suhu 25 °C. Penelitian ini telah memperoleh identitas senyawa saponin berdasarkan karakter spektra IR, H-NMR dan <sup>13</sup>C-NMR, sedangkan karakter dengan KLT memberikan 6 noda ungu gelap pada R<sub>f</sub> 0,40-0,68 dengan eluen campuran kloroform-metanol-air.



**3-O-[D-glukopiranosil (1-2)-oleanolic acid]/28-O-D-glukopiranosil ester**  
 Gambar 2.6. Struktur Saponin Triterpenoid *Aralia Elata* (Song, *et.al.*, 2001  
 dalam Kristianingsih, 2005 )

Irmanida (2003) pada penelitiannya melakukan pemisahan senyawa saponin triterpenoid pada akar kuning dengan menggunakan metode Beutler (1997) yaitu dengan melarutkan serbuk akar kuning dengan metanol dan kemudian diendapkan dengan eter. Endapan yang didapat difraksinasi dengan n-butanol dan pemisahan menggunakan kolom sepadex LH-20, kemudian diuji kemurnian dengan KLT menggunakan eluen kloroform:metanol. Setelah itu disemprot dengan penampak noda campuran (4-metoksibenzaldehida:asam sulfat:asam setat dengan perbandingan 1:2:100) dan didapat nilai  $R_f$  0,43-0,75 yang ditandai dengan timbulnya warna ungu.

### 2.6.2. Fourier Transform Infrared (FTIR)

Metode pengukuran dengan spektrofotometer FTIR paling sering digunakan dalam fitokimia sebagai alat pembuat sidik jari untuk membandingkan cuplikan alam dengan cuplikan sintesis yang sangat penting pada identifikasi berbagai jenis kandungan tumbuhan dan berguna juga untuk penentuan struktur bila ditemukan senyawa baru (Harbourne, 2002). Informasi utama spektrum IR ini adalah memberikan keterangan tentang keberadaan

gugus fungsi dalam molekul (C-H, OH, C=O, C-O-C, C=C, C-C, N-H) yang mempunyai daerah vibrasi yang berbeda-beda (Sastrohamidjojo, 1992).

Kelebihan dari FTIR mencakup persyaratan ukuran sampel yang kecil, perkembangan spektrum yang cepat dan karena instrumen ini memiliki komputer yang terdedikasi sehingga memiliki kemampuan untuk menyimpan dan menghasilkan spektrum yang lebih baik dan lebih halus dibanding dengan inframerah dispertif.

Keunggulan FTIR dibandingkan dengan inframerah dispertif adalah sebagai berikut (Tahid, 1994 dalam Hayati, E.K., 2005) :

- a. **Perbandingan sinyal / nois** : penggunaan prisma dan sistem celah dalam spektroskopi inframerah dispertif menyebabkan kehilangan sebagian energi sinar untuk mencapai resolusi yang tinggi, sehingga celah harus diatur sekecil mungkin. FTIR tidak menggunakan prisma atau sistem celah sehingga energi yang masuk detektor cukup tinggi. Pengukuran unsur-unsur spektrum diproses serempak dan berlangsung cepat sehingga meningkatkan perbandingan sinyal / nois atau SNR (*Signal-toNois Ratio*).
- b. **Resolusi** : penggunaan interferometer tidak menimbulkan efek pengurangan intensitas sinar yang masuk ke detektor. Pemisahan panjang gelombang dengan sinar laser dikontrol komputer sehingga lebih teliti dan merata.
- c. **Kepekaan** : sinar yang diproses pada interferometer diteruskan ke detektor masih mempunyai intensitas tinggi. Detektor akan mengukur unsur secara cepat dan serempak, karenanya diperlukan detektor MCT (*mercury*

*cadmium telluride*) yang memberikan tanggapan yang lebih baik frekuensi modulasi tinggi, lebih sensitif, lebih cepat, dan tidak dipengaruhi oleh temperatur, sehingga perbandingan sinyal / nois tinggi, oleh karena itu sampel yang diperlukan sedikit.

Song, *et.al.* (2001) dan Bedir, *et.al.* (2000) dalam Kristianingsih, 2005 telah mengidentifikasi terpenoid saponin dari spesies *araliceae* menggunakan spektrofotometri IR dan didapatkan data sebagai berikut:

Tabel 2.2. Bilangan Gelombang dan Jenis Vibrasi saponin pada *Hedera Helix* dan *Aralia Elata*

Pola serapan	Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensitas
O-H	Regangan -OH glukosa	3440-3402	sedang
-C-H	Regangan -CH dan -CH <sub>2</sub>	2926-2850	lemah
-C=O	Regangan -C=O karbonil	1740-1730	kuat
C=C	Regangan C=C	1660-1628	sedang-lemah
-CH <sub>3</sub>	Tekukan -CH <sub>3</sub>	1450-1310	Sedang
C-O	Regangan -C-O	1123-1010	kuat

Sumber : Song, *et.al.*, 2001 dan Bedir, *et.al.*, 2000 dalam Kristianingsih, 2005

### 2.6.3. Uji Efektifitas Saponin sebagai Antibakteri

Antibakteri adalah *agen* kimia yang mampu menginaktivasi bakteri. Inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri (*bakteriostatik*) atau bahkan bersifat membunuh bakteri (*bakterisid*) (Brooks, dkk., 2001).

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Antimikroba tertentu

aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Ganiswarna, S.G, 1995).

*Bakteriostatik* memiliki kemampuan menghambat perkembangan bakteri; perkembangbiakan akan berlangsung lagi bila zat antibakteri telah tiada. *Bakterisid* memiliki sifat mematikan bakteri, bakteri tidak dapat pulih lagi; yaitu bakteri yang sudah dimatikan tidak dapat berkembangbiak meskipun sudah tidak terkena zat antimikroba lagi (Jawetz, *et.al.*, 1996).

Mekanisme kerja antimikroba ada lima diantaranya : menghambat metabolisme sel mikroba, menghambat sintesis dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, menghambat sintesis protein sel mikroba dan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba (Ganiswarna, S.G, 1995).

Mekanisme resistensi sel mikroba adalah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antimikroba atau antibiotik. Ada beberapa mekanisme resistensi suatu bakteri terhadap antimikroba yaitu perubahan tempat kerja (*target site*) obat pada mikroba, mikroba menurunkan permeabilitas dinding selnya sehingga senyawa saponin sulit masuk kedalam sel, inaktivasi saponin oleh mikroba, mikroba membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh saponin, dan meningkatkan produksi enzim yang dihambat oleh saponin (Ganiswarna, S.G., *et.al.*, 1995).

Saponin adalah senyawa penurun tegangan permukaan yang kuat yang menimbulkan busa bila dikocok dalam air, sifatnya menyerupai sabun. Saponin bekerja sebagai antimikroba dengan mengganggu stabilitas membran

sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakterilisis (Cheeke, P.R, 2003), jadi mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antimikroba yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Ganiswarna, S.G, 1995).

Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik bervariasi. Bakteri gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif, meskipun beberapa antibiotik hanya dapat bereaksi pada bakteri gram negatif, tetapi tidak menutup kemungkinan bakteri gram negatif lebih peka dibanding dengan bakteri gram positif pada beberapa antibiotik tertentu. Zat antibiotik yang dapat bereaksi dengan bakteri gram positif dan gram negatif disebut dengan antibiotik *Broad Spectrum* atau antibiotik berspektrum luas (Brock and Madigan, 1991).

Ekstrak saponin dari gandum (*Sorghum Bicolor* L.) bersifat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif yaitu *s. aureus* pada kadar hambat minimum (KHM) 25 mg/mL, sedangkan pada bakteri gram negatif dan jamur pada *escherichia coli* dan *candida albican* bersifat tidak menghambat. Kontrol positif untuk bakteri *s. aureus* menggunakan penisilin 25 mg/mL dengan volume 0,4 µL, sedangkan kontrol positif untuk bakteri *e. coli* menggunakan streptomycin 6,25 mg/mL dengan volume 1,6 µL (Soetan, *et.al*, 2006) dan pelarutnya n-butanol (sebagai kontrol negatif).

Uji antimikroba dilakukan terhadap *e. coli* dan *s. aureus*. Kedua jenis bakteri tersebut memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Dinding sel *s.aureus* yang merupakan kelompok bakteri gram positif memiliki struktur yang mempunyai banyak peptidoglikan dan relatif sedikit lipid sedangkan *e.coli* merupakan kelompok bakteri gram negatif yang relatif lebih banyak mengandung lipid (Hugo dan Russell, 1998).

Uji antibakteri dapat dilakukan untuk mengetahui sejauh mana aktivitas suatu bakteri terhadap antimikroba. Ada 3 metode yang umum digunakan dalam uji antibakteri, yaitu metode dilusi kaldu, metode dilusi agar, dan metode difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan metode yang paling sering digunakan untuk uji kerentanan antimikroba dan metode ini dirancang untuk organisme yang tumbuh cepat seperti *staphylococcus*. Cara kerja metode difusi cakram yaitu sampel yang diuji diserapkan pada kertas saring yang berbentuk cakram dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C sampai terlihat zona hambatan disekitar cakram (Brock and Madigan, 1991).

## **BAB III**

### **METODOLOGI**

#### **3.1. Tempat Dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan mulai bulan februari sampai dengan bulan maret 2008 Dilaboratorium Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Malang dan Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

#### **3.2. Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1. Alat dan Bahan untuk Ekstraksi Saponin**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, blender, neraca analitik (Mettler AE 25), oven, pipet tetes, pipet ukur, kaca arloji, gelas beaker, gelas ukur, bola hisap, erlenmeyer, tabung reaksi, corong gelas, corong pisah, pengaduk gelas.

Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam ekstraksi berderajat proanalisis (pa). Bahan yang digunakan adalah metanol, aquades, HCl, dietil eter, n-butanol.

##### **3.2.2. Alat dan Bahan untuk Identifikasi menggunakan FTIR**

Bahan yang digunakan adalah pelet KBr dan alat yang digunakan adalah seperangkat alat spektrofotometer FTIR merk SHIMADZU.

### 3.2.3. Alat dan Bahan untuk Uji Efektivitas Antibakteri Saponin

Alat yang digunakan adalah autoklaf, cawan petri (9 cm), botol media, bunsen, jangka sorong, timbangan analitik (Mettler AE 25), handsprayer, pipet ukur, pipet mikro, tabung reaksi, beaker glass, bola hisap, erlenmeyer, labu ukur, pangaduk, jarum ose, pinset, rak tabung reaksi, penangas air.

Bahan yang digunakan adalah akuades steril, alkohol 70 %, spiritus, aluminium foil, *warp*, kertas label, tissue steril, kapas, kertas cakram, *cotton bath*, media NA, penisilin, streptomycin, biakan murni *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*.

### 3.4. Rancangan Penelitian

Dalam penelitian yang berjudul "Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*)" ada tiga tahapan yaitu:

- Tahapan 1 : Menentukan kadar ekstrak kasar saponin dalam batang belimbing wuluh
- Tahapan 2 : Mengidentifikasi senyawa saponin dengan FTIR
- Tahapan 3 : Uji aktifitas antibakteri ekstrak kasar saponin pada bakteri gram positif *s. aureus* dan bakteri gram negatif *e. coli*.

*Beberapa tahapan keseluruhan meliputi:*

1. Preparasi sampel dengan batang dikeringkan dan dijadikan serbuk untuk memudahkan proses ekstraksi.
2. Uji pendahuluan : uji busa

### 3. Isolasi saponin meliputi :

- a) Maserasi menggunakan pelarut metanol 80 % untuk untuk menghasilkan ekstrak yang banyak karena saponin bersifat polar.
  - b) Penghilangan klorofil, lemak dan senyawa pengotor yang terdapat pada ekstrak.
  - c) Reekstraksi saponin dengan n-butanol.
  - d) Menentukan kadar ekstrak kasar saponin.
4. Identifikasi dengan FTIR untuk memperkuat dugaan bahwa senyawa sintesis adalah senyawa saponin.
  5. Penentuan kualitatif senyawa saponin sebagai antimikroba dengan konsentrasi 100 mg/mL dan 1000 mg/mL.
  6. Penentuan konsentrasi penghambatan minimum (KHM) ekstrak senyawa saponin hasil isolasi dengan variasi konsentrasi (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 mg/ml) untuk mengetahui aktifitas antimikroba senyawa saponin hasil isolasi.

## 3.5. Metode Penelitian

### 3.5.1. Preparasi Sampel

Sebanyak 1 kg batang tanaman belimbing wuluh yang masih muda dibersihkan, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60 °C sampai diperoleh berat konstan. Kemudian digiling dan dihaluskan sampai berupa bubuk halus. Serbuk batang ini disebut sampel.

### **3.5.2. Uji Kualitatif**

#### **3.5.2.1. Uji Busa**

Sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 mL air, 5 mL air panas. kemudian dikocok kuat-kuat selama 10-15 menit dan diamati busa yang timbul sampai stabil dan diukur tingginya, sebelum busa hilang ditetesi dengan HCl 1 N. Bila busa tetap stabil menunjukkan reaksi positif, ketinggian 1-3 cm ekstrak positif mengandung saponin (Kristianingsih, 2005).

#### **3.5.3. Ekstraksi Saponin**

Pada metode ini untuk memperoleh ekstrak saponin dilakukan ekstraksi hasil modifikasi Huan, *et.al.* (1998) dengan metode maserasi. Pertama ditimbang 100 gram sampel kemudian direndam dengan 700 mL metanol 80 % dan dikocok tiap 2 jam sekali. Perlakuan perendaman ini dilakukan sebanyak 2x selama  $\pm 24$  jam. Ekstrak disaring dengan kertas saring kemudian filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Ekstrak pekat dimasukkan dalam corong pisah 50 mL dan disuspensi dengan aquades, dicuci dengan dietil eter dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan air diambil dan diekstraksi dengan n-butanol. Lapisan yang mengandung n-butanol diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Ekstrak yang didapat disaring dan ditimbang. Perlakuan dilakukan secara duplo. Ekstrak diidentifikasi dengan FTIR dan selanjutnya ekstrak di uji aktifitas antibakteri dengan variasi konsentrasi (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 mg/mL).

### 3.5.4. Identifikasi Senyawa Isolat Dengan FTIR

Senyawa yang dikarakterisasi dengan FTIR adalah ekstrak hasil isolasi yang diduga sebagai senyawa saponin. Sampel diambil 0,02 g dan ditambah 0,2 g KBr dan digerus hingga tercampur dengan sempurna. Kemudian campuran ditekan hingga diperoleh pelet KBr dan dianalisis dengan FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  dengan kondisi sebagai berikut :

*Resolution* : 4

*Scans* : 16

*Gain* : 10

*Apodiazation*: CS.

### 3.5.5. Uji Efektifitas Antimikroba

#### 3.5.5.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat dan bahan dengan cara menutup alat-alat yang akan disterilkan dengan aluminium foil atau kapas, kemudian memasukkannya ke dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup> C dengan tekanan 15 psi (*per square inchi*) selama 15 menit.

#### 3.5.5.2. Pembuatan Media

Media yang disiapkan adalah media padat agar miring untuk peremajaan biakan murni dan uji antibakteri senyawa hasil reaksi pada bakteri *s. aureus* dan *e. coli*. Pembuatan media dilakukan dengan cara sebanyak 2 gram nutrisi agar dilarutkan dalam 100 mL akuades dalam

beaker glass. Kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas dan kertas. Suspensi dipanaskan hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam 10 tabung reaksi (masing-masing 10 mL untuk 8 tabung reaksi dan 5 mL untuk 2 tabung reaksi) dan ditutup dengan kapas. Proses ini dilakukan di samping api dengan dipanaskan. Kemudian disterilkan dalam autoklaf suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian tabung yang berisi 5 mL larutan nutrisi agar diletakkan dalam posisi miring dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang.

#### **3.5.5.3. Peremajaan Biakan Murni *S. Aureus* dan *E. Coli***

Biakan murni *s. aureus* dan *e. coli* digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat agar miring dan tabung media ditutup dengan kapas. Selanjutnya biakan *s. aureus* dan *e. coli* diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C.

#### **3.5.5.4. Pembuatan Larutan Bakteri *S. Aureus* dan *E. Coli***

Diambil 1 ose dari hasil peremajaan biakan murni *s. aureus* dan *e. coli* untuk dilarutkan dalam 10 mL akuades steril.

#### **3.5.5.5. Uji Aktifitas Mikrobial**

Media agar berisi 10 mL nutrisi agar (tahap 3.5.5.2) dipanaskan hingga mencair dan kemudian didinginkan sampai suhu  $\pm 40$  °C. Larutan nutrisi agar dimasukkan dalam cawan petri dan dicampur dengan 0,1 mL

larutan bakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*, kemudian dihomogenkan. Kertas cakram direndam dalam ekstrak selama 15 menit dengan variasi konsentrasi 100, 200, 300, 400 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 (mg/mL). Kontrol positif untuk bakteri *staphylococcus aureus* menggunakan pinisilin 25 mg/mL dengan volume 0,4  $\mu$ L, sedangkan kontrol positif untuk bakteri *escherichia coli* menggunakan streptomycin 6,25 mg/mL dengan volume 1,6  $\mu$ L (Soetan, *et.al*, 2006) dan pelarutnya n-butanol (sebagai kontrol negatif). Setelah itu kertas cakram yang sudah direndam dalam ekstrak selama 15 menit diletakkan di atas permukaan media menggunakan pinset steril dan ditekan sedikit. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C sampai muncul daerah hambatan selama 18-24 jam. Untuk pembacaan awal dapat dilakukan setelah 6-8 jam untuk penguatan. Pengukuran zona hambatan dilakukan dengan mengukur diameter daerah jernih menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat adalah diameter yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar kertas cakram dikurangi diameter kertas cakram.

Hasil zona hambat yang didapat kemudian disesuaikan dengan tabel pada lampiran 5. yang menjelaskan daftar ukuran daerah hambatan pelbagai antibiotika dan khemoterapetika.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Uji Kualitatif Senyawa Saponin dalam Batang Belimbing Wuluh

Uji kualitatif merupakan uji pendahuluan yang dilakukan untuk mendeteksi awal adanya senyawa yang akan diekstrak, dalam penelitian ini menggunakan uji busa untuk mengetahui adanya senyawa saponin dalam sampel batang belimbing wuluh. Uji busa dilakukan dengan penambahan 5 mL air dingin, 5 mL air panas lalu dikocok kuat-kuat selama 15 menit dan ditetesi dengan HCl 1 N. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya busa stabil (dengan tinggi 1-3 cm), yang merupakan ciri khas senyawa saponin. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air (*hidrofilik*) dan senyawa yang larut dalam pelarut nonpolar (*hidrofobik*) sebagai surfaktan (senyawa yang dapat menurunkan tegangan permukaan).

Dari uji busa, tinggi busa yang dihasilkan adalah 1 cm, sehingga diasumsikan bahwa secara kualitatif dalam batang belimbing wuluh mengandung saponin (disajikan pada Lampiran 11). Uji busa juga dilakukan pada ekstrak saponin hasil isolasi, hasilnya adalah busa yang dihasilkan lebih banyak (tinggi busa 2,5 cm).

#### 4.2. Kadar Ekstrak Saponin Hasil Isolasi Dalam Batang Belimbing Wuluh

Ekstraksi merupakan proses pengambilan komponen dari sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Brian, 1989). Bahan analisis diperoleh dari

ekstraksi sampel dengan menggunakan metode maserasi menggunakan metanol 80% selama 24 jam karena proses ekstraksi akan berlangsung optimal dengan tersedianya waktu kontak yang cukup lama antara sampel dan pelarutnya, selain itu metode maserasi merupakan metode yang murah dan mudah digunakan.

Tabel 4.1. Kadar Ekstrak Kasar Saponin dari Batang Belimbing Wuluh

Keterangan	Ulangan 1	Ulangan 2
Berat sampel batang belimbing wuluh (gram)	100	100
Ekstrak kasar saponin (%)	0,37	0,33

Metode ini mengacu pada penelitian Song, *et.al.* (2001) yang menggunakan pelarut metanol 80 % yang mempunyai sifat polar dimana saponin juga bersifat polar hal ini ditunjukkan dari gugus OH, C-H dan glukosa. Gugus polar ini menyebabkan saponin bersifat polar sehingga akan mudah larut dalam pelarut metanol yang bersifat polar. Di dalam pelarut polar maka gugus polar akan mengatur dirinya untuk cenderung berinteraksi dengan pelarut polar. Hal ini sesuai dengan prinsip “*like dissolves like*” dimana senyawa polar cenderung larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar cenderung larut dalam pelarut nonpolar.

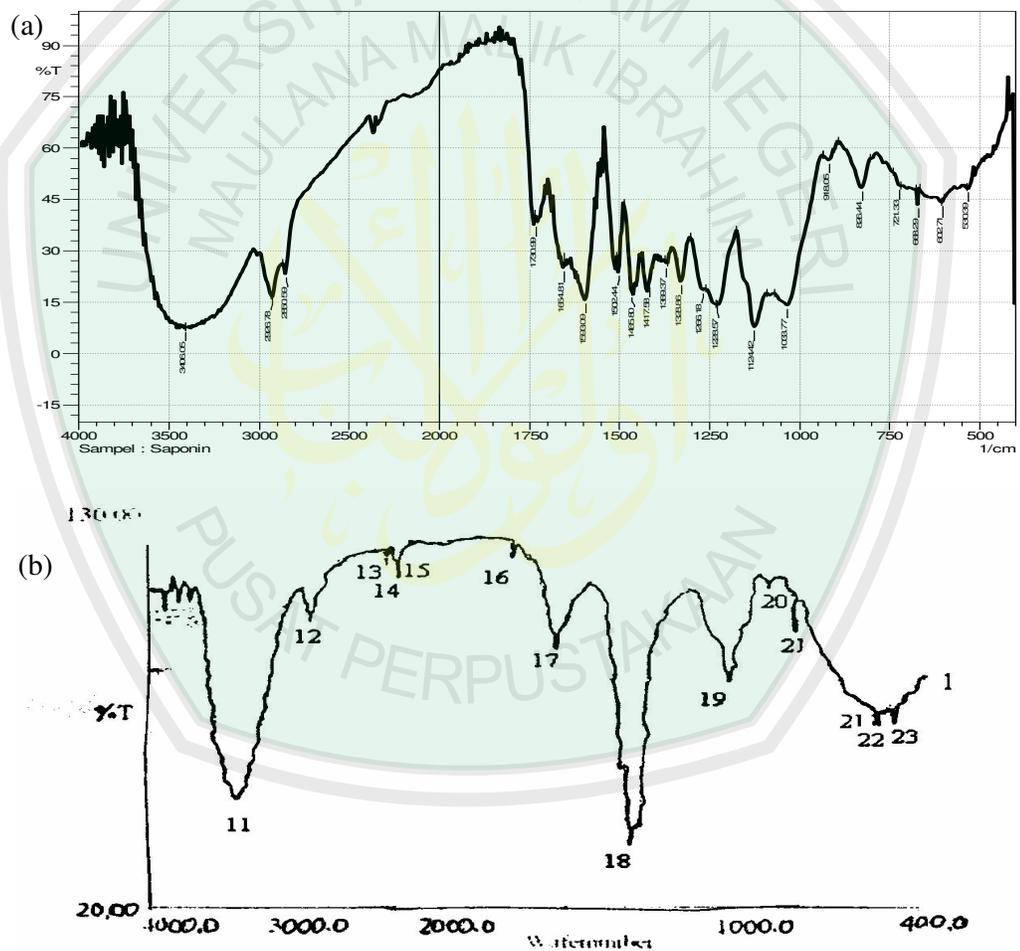
Maserasi dilakukan selama 24 jam, ekstrak metanol dipisahkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* tujuannya untuk memisahkan ekstrak, selain itu dengan *rotary evaporator vacuum* pelarut dapat diperoleh kembali

sehingga pelarut dapat digunakan lagi. Ekstrak yang diperoleh dari pemekatan berupa ekstrak pekat berwarna coklat sebanyak 5 mL dan endapan berwarna coklat tua yang berbau seperti jamu.

Ekstrak pekat disuspensi dengan air tujuannya supaya saponin dapat tersuspensi dalam air, dan dicuci dengan dietil eter untuk menghilangkan klorofil, lemak dan senyawa-senyawa lain (senyawa pengotor) yang mungkin masih terdapat dalam ekstrak. Lapisan air yang bersifat polar diambil dan diekstrak dengan n-butanol untuk mengisolasi saponin dari campurannya karena saponin mudah larut dalam n-butanol (yang bersifat polar). Senyawa saponin mengandung gugus glikosida karena struktur dari glikosida yang bersifat polar sehingga kemungkinan senyawa saponin hasil isolasi adalah senyawa saponin yang terikat sebagai glikosida. Ekstrak n-butanol yang berwarna kuning kecoklatan dipisahkan dengan *rotary evaporator vacum*, dari proses ekstraksi diperoleh ekstrak saponin dalam bentuk serbuk berwarna coklat tua dengan bau seperti jamu yang sangat menyengat. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali, dari sampel batang belimbing wuluh dengan berat 100 gram diperoleh ekstrak berupa serbuk seberat 0,3661 gram, kemudian ekstraksi kedua diperoleh ekstrak berupa serbuk seberat 0,3349 gram, kadar ekstrak kasar saponin dari proses ekstraksi diperoleh 0,35 % b/b, dengan perhitungan selengkapnya disajikan pada Lampiran 9. Serbuk saponin yang diperoleh diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR dan diuji efektifitas antimikrobanya terhadap bakteri *e. coli* dan *s. aureus*.

### 4.3. Identifikasi Senyawa Saponin dengan Spektrofotometer FTIR

Hasil identifikasi spektra FTIR memberikan informasi jenis dan gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak saponin dari batang belimbing wuluh yang disajikan pada Gambar 4.1. sedangkan pola serapan spektranya dapat dilihat pada Tabel 4.2.



Gambar 4.1. (a) Spektra FTIR Ekstrak Saponin hasil Isolasi dari Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn)  
(b) Spektra IR Isolate 1 Saponin Akar Kedondong Laut (Kristianingsih, 2005)

Tabel 4.2. Serapan FTIR Ekstrak Saponin dari Batang Belimbing Wuluh  
(*Averrhoa Bilimbi* Linn)

No	Bilangan Gelombang Saponin (cm <sup>-1</sup> )	Bilangan Gelombang Referensi (cm <sup>-1</sup> )	Intensitas Referensi	Vibrasi Referensi
1	3406,05	3440-3402	Sedang	Regangan –OH glukosa
2	2926,78	2900-2865	Kuat	Regangan –CH <sub>2</sub> simetri dari eter (-OCH <sub>2</sub> )
3	2850,59	2880-2835	Sedang	Regangan –CH <sub>2</sub> asimetri dari eter (-OCH <sub>2</sub> )
4	1730,99	1816-1340	Kuat	Regangan C=O alifatik dari asam karboksilat
5	1654,81	1660-1628	Lemah	Regangan C=C tak terkonjugasi pada gugus alkena
6	1593,09	1650-1550	Kuat	Regangan C=O asimetri dari asam karboksilat
7	1502,44	1470-1435	Sedang- kuat	Regangan C-H dari eter
8	1465,8	1480-1440	Sedang	Guntingan CH <sub>2</sub>
9	1417,58	1420-1410	Sedang	Guntingan CH <sub>2</sub>
10	1369,37	1415-1350	Sedang	Goyangan C-H aldehid
11	1328,86	1395-1380	Sedang	Tekukan CH <sub>3</sub>
12	1266,18	1320-1260	Sedang	Goyangan C-H dari aldehid
13	1228,57	1270-1030	Kuat	Regangan C-O siklik dari eter
14	1124,42	1150-1060	Kuat	Regangan C-O dari eter
15	1033,77	1085-1030	Sedang	Regangan C-O dari alkohol primer (-CH <sub>2</sub> -OH)
16	918,05	970	Sedang	Goyangan CH <sub>3</sub>
17	826,44	825-810	Kuat	Tekukan CH <sub>2</sub> keluar bidang
18	721,33	725-720	Lemah-sedang	Goyangan CH <sub>2</sub>
19	668,29	690-610	Lemah	tekukan CH kibrasi dari -CH=CH-
20	602,71			
21	530,39	570-430	Lemah	Guntingan CH <sub>2</sub> dari sikloheksana

Sumber : Socrates, 1980

Hasil analisis pola serapan FTIR yang didapatkan dari penelitian ini memiliki pola serapan kuat pada bilangan gelombang  $3406,05\text{ cm}^{-1}$  disebabkan karena vibrasi dari OH yang diduga dari glukosa, dan vibrasi regangan  $\text{CH}_2$  simetri dari eter memberikan serapan kuat pada bilangan gelombang  $2926,78\text{ cm}^{-1}$ . Terjadinya serapan sedang pada bilangan gelombang  $2850,59\text{ cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi regangan  $-\text{CH}_2$  asimetri dari eter dan serapan kuat pada bilangan gelombang  $1730,99\text{ cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi regangan  $\text{C}=\text{O}$  alifatik dari asam karboksilat. Pita serapan lemah pada bilangan gelombang  $1654,81\text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi regangan  $\text{C}=\text{C}$  tak terkonjugasi yang didukung adanya serapan lemah pada bilangan gelombang  $602,71\text{ cm}^{-1}$  dan  $668,29\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan vibrasi tekukan dari C-H kibasan.

Adanya serapan kuat pada bilangan gelombang  $1593,09\text{ cm}^{-1}$  akibat dari vibrasi regangan C-O dari asam karboksilat dan serapan sedang-kuat pada bilangan gelombang  $1502,44\text{ cm}^{-1}$  dan  $1417,55\text{ cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi guntingan  $\text{CH}_2$ . Sedangkan serapan sedang pada bilangan gelombang  $1369,37\text{ cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi C-H dari aldehid. Serapan sedang pada bilangan gelombang  $1328,86\text{ cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi tekukan  $\text{CH}_3$ .

Vibrasi goyangan C-H dari aldehid memberikan serapan sedang pada bilangan gelombang  $1266,18\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan regangan C-O siklik dari eter memberikan serapan kuat pada bilangan gelombang  $1228,57\text{ cm}^{-1}$ . Serapan kuat dari bilangan gelombang  $1124,42\text{ cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi regangan C-O dari eter. Vibrasi regangan C-O dari alkohol primer memberikan serapan sedang pada bilangan gelombang  $1033,77\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan vibrasi goyangan  $\text{CH}_3$

memberikan serapan sedang pada bilangan gelombang 918,05  $\text{cm}^{-1}$ . Vibrasi bengkokan C-H keluar bidang memberikan serapan kuat pada bilangan gelombang 826,44  $\text{cm}^{-1}$  dan vibrasi goyangan  $\text{CH}_2$  memberikan serapan lemah-sedang pada rentang bilangan gelombang 721,33  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan lemah dari bilangan gelombang 530,39  $\text{cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi gantungan  $\text{CH}_2$  dari sikloheksana (Socrates, 1980).

Hasil analisis spektra FTIR pada Gambar 4.1. (a) menjelaskan bahwa gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak saponin hasil isolasi dari batang belimbing wuluh adalah gugus  $-\text{OH}$  dari gula yang didukung adanya C-O dari alkohol primer, C=O alifatik dari asam karboksilat,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2$  asimetri,  $-\text{CH}$  dan C=C tak terkonjugasi yang didukung CH kibusan. Semua gugus yang didapat dan didukung dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm pada uji busa yang dilakukan dalam penelitian ini, dapat dikatakan bahwa serbuk yang diperoleh kemungkinan adalah senyawa saponin.

Pembandingan dengan hasil spektra IR penelitian Kristianingsih (2005) saponin dari akar kedondong laut yang sudah difraksinasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Dalam akar kedondong laut terdapat 3 jenis senyawa saponin. Spektra IR isolat 1. pada Gambar 4.1.(b) menunjukkan adanya gugus fungsi yang meliputi : gugus  $-\text{OH}$  dari gula yang didukung regangan C-O,  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2$ ,  $-\text{CH}$  alkena dan C=C tak terkonjugasi (Kristianingsih, 2005).

Senyawa saponin yang murni perlu dilakukan proses pemisahan yang lebih spesifik dengan menggunakan kromatografi kolom atau kromatografi lapis

tipis preparatif (KLTP). Berdasarkan struktur umum saponin, gugus yang spesifik ditunjukkan oleh adanya gugus -OH glukosa, -CH<sub>2</sub>, regangan -C=O karbonil, regangan C=C, regangan -C-O, dan tekukan -CH<sub>3</sub>, Song, *et.al.* (2001) dan Bedir, *et.al.* (2000). Hasil ekstrak saponin dari batang belimbing wuluh mengasumsikan adanya gugus C-O dari alkohol, C=O alifatik, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub> asimetri, -CH dan C=C tak terkonjugasi spesifik saponin sebagaimana pada Tabel 4.2.

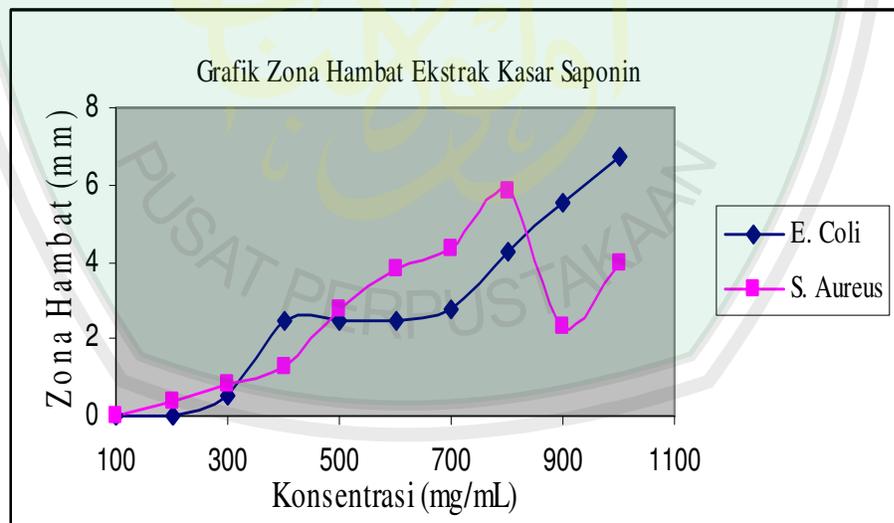
Ekstrak saponin yang didapat dalam penelitian ini masih belum murni, hal ini ditunjukkan dengan adanya banyak puncak-puncak lain pada spektra FTIR selain gugus khas saponin. Senyawa saponin yang diekstraksi masih berupa ekstrak kasar, karena tidak dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom atau KLTP. Spektra FTIR ekstrak kasar saponin yang diperoleh menunjukkan adanya senyawa aktif lain yang bersifat polar yang ikut terekstrak.

#### **4.4. Hasil Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Senyawa Saponin dari Belimbing Wuluh**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas saponin dari batang belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn) sebagai antimikroba terhadap bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus*.

Tabel 4.3. Uji Efektivitas Senyawa Saponin pada Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia coli*

No.	Konsentrasi Bahan Antibakteri (mg/mL)	Kekuatan Cakram ( $\mu\text{g}$ )	Zona Hambat (mm)	
			<i>E. Coli</i>	<i>S.Aureus</i>
1	100	450	0	0
2	200	900	0	0,4
3	300	1350	0,5	0,8
4	400	1800	2,5	1,3
5	500	2250	2,5	2,8
6	600	2700	2,5	3,8
7	700	3150	2,75	4,3
8	800	3600	4,25	5,8
9	900	4050	5,5	2,3
10	1000	4500	6,75	4
11	Streptomycin	10	13	-
	Pinisilin		-	15
12	n-butanol	NA	1,5	1,7



Gambar 4.2. Grafik Zona Hambat Ekstrak Kasar Saponin pada Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia coli*

Uji aktivitas senyawa hasil sintesis sebagai bahan antibakteri, menggunakan metode difusi cakram. Metode ini dilakukan dengan mengukur diameter hambatan pertumbuhan bakteri uji yang terbentuk di sekitar cakram yang berisi ekstrak, kemudian dibandingkan dengan diameter hambatan di sekitar cakram yang berisi n-butanol sebagai kontrol negatif, cakram yang berisi penisilin dan cakram yang berisi streptomycin sebagai pembanding kontrol positifnya.

Penelitian ini menggunakan sepuluh konsentrasi ekstrak saponin yang berbeda yaitu 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, dan 1000 (mg/mL). Hasil dari penelitian ini adalah ekstrak saponin menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *e.coli* mulai pada konsentrasi 300 mg/mL. Zona hambat ditunjukkan oleh daerah di sekitar cakram yang berwarna bening akibat tidak ditumbuhi bakteri. Pada konsentrasi 300 mg/mL, cakram yang mengandung ekstrak saponin menunjukkan zona hambat sebesar 0,5 mm, sedangkan pada konsentrasi 400-600 mg/mL ekstrak saponin menunjukkan zona hambat yang sama sebesar 2,5 mm. Ekstrak saponin pada konsentrasi 700-1000 mg/mL terus mengalami peningkatan zona hambat dari 2,75; 4,25; 5,5; dan 6,75 mm.

Ekstrak saponin menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *s. aureus* mulai pada konsentrasi 200 mg/mL. Peningkatan diameter daerah zona hambat terus terjadi dari konsentrasi 200-800 mg/mL yaitu sebesar 0,4; 0,8; 1,3; 2,8; 3,8; 4,3; dan 5,8 mm. Ekstrak saponin pada konsentrasi 900 mg/mL dan 1000 mg/mL, menunjukkan aktivitas yang menurun dengan diameter daerah zona hambat sebesar 2,3 mm pada konsentrasi 900 mg/mL dan 4 mm pada konsentrasi 1000 mg/mL (zona hambat yang lebih rendah dari konsentrasi 800 mg/mL). Hal ini

diduga bahwa bakteri yang tumbuh pada konsentrasi tersebut mengalami mekanisme resistensi terhadap antimikroba ekstrak kasar saponin.

Terjadinya mekanisme resistensi bakteri terhadap antimikroba saponin, menyebabkan terbentuknya beberapa populasi bakteri yang resisten sehingga menyebabkan zona hambat disekitar cakram lebih kecil.

Saponin bersifat polar, kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa ini lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif sehingga terlihat nilai kadar bahan uji pada zona hambat menunjukkan angka yang lebih rendah pada uji terhadap *s. aureus* yaitu pada konsentrasi 200 mg/mL. Senyawa saponin lebih mudah menembus dinding sel bakteri *s. aureus* karena dinding sel bakteri ini lebih banyak mengandung peptidoglikan (protein dan gula) dari pada lipid (lemak) dan dinding selnya lebih tipis, sehingga dinding sel bakteri ini lebih mudah ditembus senyawa saponin yang bersifat polar. Hal ini berbeda dengan dinding sel pada bakteri *e. coli* mengandung lebih banyak lipid (lemak) dan lebih tebal, sehingga dinding selnya lebih sulit ditembus dan lebih resisten terhadap saponin yang bersifat polar. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya zona hambat pertama kali membutuhkan konsentrasi ekstrak kasar saponin sebesar 300 mg/mL, lebih besar dari treatment untuk bakteri *s. aureus* (selengkapnya disajikan pada Tabel 4.3.).

n-butanol digunakan sebagai kontrol negatif, n-butanol adalah pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa saponin. Manfaat kontrol negatif untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan juga mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil penelitian diperoleh bahwa n-butanol

menunjukkan zona hambatan sebesar 1,7 mm pada biakan bakteri *staphylococcus aureus*, sedangkan pada biakan bakteri *e. coli* menunjukkan zona hambatan sebesar 1,5 mm. Hal ini karena senyawa n-butanol merupakan senyawa golongan alkohol dengan struktur R-CH<sub>2</sub>OH (dimana R berarti “gugus alkil”) yang bersifat antimikroba, molekulnya bekerja sebagai denaturan protein dalam menghambat bakteri.

Kontrol positif digunakan untuk membandingkan efektivitas antimikroba ekstrak saponin dengan efektivitas antimikroba antibiotik standar. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini ada 2 yaitu antibiotik penisilin sebagai kontrol untuk bakteri *s. aureus* karena bakteri *s. aureus* peka terhadap penisilin dan antibiotik streptomycin digunakan sebagai kontrol untuk bakteri *e. coli* karena bakteri *e. coli* bersifat resisten terhadap penisilin, akan tetapi sangat peka terhadap streptomycin. Hasil penelitian kontrol positif penisilin menunjukkan zona hambatan sebesar 15 mm sedangkan streptomycin menunjukkan zona hambatan sebesar 13 mm pada kekuatan cakram 10 µg seperti pada Lampiran 5.

Senyawa saponin dapat larut dalam lemak dan larut dalam air, senyawa ini akan terkonsentrasi pada selaput sel yaitu bagian yang halus dan penting. (Jawetz, *et.al.*, 1996). Cheeke, P.R., (2004) menjelaskan bahwa saponin adalah senyawa penurun tegangan permukaan yang kuat, saponin bekerja sebagai antimikroba dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri mengalami lisis.

Ekstrak kasar senyawa saponin hasil penelitian ini mempunyai potensi sebagai antimikroba pada bakteri *s. aureus* dan bakteri *e.coli*. hal ini ditunjukkan

oleh adanya daerah zona hambat pada Tabel 4.3., akan tetapi zona hambat yang diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat antibiotik standar pada konsentrasi hambat minimum (KHM). Kadar hambat minimum adalah kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

Tabel 4.4. Daftar Ukuran Daerah Hambatan Pelbagai Antibiotika dan Khemoterapetika

Antibiotik Atau Khemoterapetika	Kekuatan cakram	Garis tengah daerah hambatan (mm)		
		Resistens	Agak resisten	Peka
Pinisilin	10 µg	≤ 20	21-28	>28
Streptomycin	10 µg	≤ 11	12-14	>15

Sumber : Bonang, G., dan Koeswardono, E.S., (1982)

Pada seluruh konsenstrasi ekstrak kasar saponin 100-1000 mg/mL (kekuatan cakram dari 450-4500 µg), treatmen ekstrak saponin pada batang belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn) terhadap *s. aureus*, menunjukkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan zona hambat pada senyawa standar pinisilin. Zona hambat minimum pada senyawa standar, yaitu pinisilin 25 mg/mL (kekuatan cakram 10 µg) dengan KHM sebesar 21-28 mm. Pada seluruh konsenstrasi ekstrak kasar saponin 100-1000 mg/mL (kekuatan cakram dari 450-4500 µg), treatmen ekstrak saponin pada batang belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn) terhadap bakteri *e. coli* menunjukkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan zona hambat minimum pada senyawa standar streptomycin 6,25 mg/mL (kekuatan cakram 10 µg) dengan KHM sebesar 12-14 mm (Bonang, G., Koeswardono, E.S., 1982).

Pembandingan zona hambat ekstrak kasar saponin terhadap zona hambat minimum (KHM) kontrol positif yaitu zona hambat streptomycin 13 mm pada *escherichia coli* dan zona hambat minimum pinisilin 15 mm pada *staphylococcus aureus*, maka ekstrak kasar saponin memberikan daerah zona hambat yang lebih kecil dari standar KHM (streptomycin dan pinisilin), sehingga dapat disimpulkan bahwa treatment ekstrak kasar saponin masih berada dalam kategori resisten untuk bakteri *e.coli* dan bakteri *s. aureus*, sesuai dengan rujukan daftar ukuran daerah hambatan pelbagai antibiotika dan khemoterapetika pada Lampiran 5.

Hasil penelitian antimikroba saponin dari penelitian yang lain yaitu penelitian Soetan, *et.al*, (2006) menjelaskan bahwa senyawa saponin dapat bertindak sebagai antimikroba. Ekstrak saponin dari gandum (*sorghum bicolor* linn) yang sudah difraksinasi dengan menggunakan kolom kromatografi dan KLT, bersifat menghambat bagi bakteri gram positif. Pada pertumbuhan bakteri gram positif yaitu *s. aureus* kadar hambat minimumnya (KHM) adalah 25 mg/mL, sedangkan pada bakteri gram negatif yaitu *e. coli* dan jamur *c. Albican*, senyawa saponin bersifat tidak menghambat.

Pada dasarnya, senyawa saponin dapat memiliki aktivitas antimikroba, akan tetapi ekstrak saponin hasil isolasi penelitian ini tidak menunjukkan aktivitas yang efektif sebagai antimikroba pada bakteri *s. aureus* maupun pada bakteri *e. coli* hal ini ditunjukkan oleh zona hambat yang diperoleh lebih kecil dari zona hambat minimum senyawa standar, meskipun kadar ekstrak saponin dalam cakram sudah sangat besar. Hal ini diduga karena ekstrak saponin hasil isolasi masih berupa ekstrak kasar, sehingga senyawa saponin yang terekstrak,

kemungkinan berjumlah sedikit dibandingkan dengan senyawa yang lain yang bersifat polar yang ikut terekstrak.

#### 4.5 Pemanfaatan Saponin dari Belimbing Wuluh dalam Perspektif Islam

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn) yang mempunyai komposisi senyawa tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, kalium sitrat dan berkasiat obat misalnya menghilangkan rasa sakit (analgetik), memperbanyak pengeluaran empedu, anti radang, peluruh kencing, astringent (Dalimartha, S., dkk, 2005).

Batang belimbing wuluh selama ini belum pernah dimanfaatkan sebagai obat ataupun yang lainnya oleh masyarakat, yang sering digunakan adalah bunganya sebagai obat batuk dan buahnya digunakan untuk menambah citarasa makanan. Ditinjau dari sisi agama, batang tanaman berfungsi sebagai penopang supaya tetap tegak dan sebagai tempat untuk mentransfer air dan mineral dari akar ke daun. Firman Allah SWT dalam surat Ibrahim ayat 24:

أَلَمْ تَرَ كَيْفَ ضَرَبَ اللَّهُ مَثَلًا كَلِمَةً طَيِّبَةً كَشَجَرَةٍ طَيِّبَةٍ أَصْلُهَا ثَابِتٌ وَفَرْعُهَا فِي

السَّمَاءِ ﴿٢٤﴾

Artinya : “Tidakkah kamu perhatikan bagaimana Allah telah membuat perumpamaan kalimat yang baik seperti pohon yang baik, akarnya teguh dan cabangnya (menjulang) ke langit”.

Ayat di atas menjelaskan bahwa setiap bagian dari makhluk hidup mempunyai manfaat seperti batang, kalau batang tumbuhan diambil maka tumbuhan itu tidak akan bisa berdiri tegak dan akan mati. Allah menciptakan

sesuatu tidak sia-sia melainkan punya maksud dan tujuan tertentu, hal ini dijelaskan dalam Al-Quran surat Ali Imran ayat 190-191 :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ  
الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ  
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya : “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya siang dan malam terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (Yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata) : “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.*”

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan batang belimbing wuluh yang mengandung komponen aktif saponin yang berpotensi sebagai obat antibakteri. Dilihat dari potensi senyawa saponin sebagai antibakteri yang terdapat dalam usus besar, maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan dan diharapkan dapat memberi informasi pada masyarakat tentang kasiat belimbing wuluh. Sehingga masyarakat membudidayakan tanaman ini dan memanfaatkannya sebagai tumbuhan herbal.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa saponin berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri uji yaitu *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* yang terdapat dalam usus besar manusia yang dapat menyebabkan penyakit diare. Belimbing wuluh termasuk tumbuhan herbal yang dimanfaatkan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit tertentu seperti tumbuhan herbal

yang sejak zaman Rosulullah SAW sudah dimanfaatkan untuk pengobatan. Seperti *'ajwa* dan *rumman*, dan hasil penelitian ini sesuai dengan surat Al-Rad ayat 4 dalam bab 2.

Berdasarkan ayat tersebut Allah SWT mencontohkan tanaman anggur dan kurma meskipun berada di tempat dan diberi air yang sama, Allah SWT melebihkan dengan rasanya. Kedua tanaman tersebut dilebihkan rasanya dan sekaligus manfaatnya. (Farooqi, M.I.H., 2005). Begitu pula dengan batang belimbing wuluh yang mengandung senyawa saponin yang berfungsi sebagai antibakteri penyebab diare. Batang belimbing wuluh dapat digunakan sebagai obat diare, ini merupakan penemuan yang baru, karena pada zaman Nabi SAW belimbing wuluh masih belum dikenal dan dimanfaatkan sebagai obat diare. Hal ini merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah SWT bagi orang-orang yang mau berpikir tentang kebesaran Allah SWT dalam makhluk ciptaan-Nya.

## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian tentang uji efektivitas antimikroba senyawa saponin dari batang tanaman belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn) adalah sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini ekstraksi dengan metode *ekstraksi bertahap* dilakukan sebanyak dua kali. Kadar ekstrak kasar saponin yang diperoleh 0,35 % b/b.
2. Dari hasil analisis spektra FTIR, gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak kasar saponin hasil isolasi dari batang belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn) menunjukkan adanya gugus -OH dari gula yang didukung adanya C-O dari alkohol primer, C=O alifatik dari asam karboksilat, gugus C=C tak terkonjugasi dan gugus -CH, -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>.
3. Ekstrak saponin dapat menghambat pertumbuhan bakteri *s. aureus* pada konsentrasi 200 mg/mL dan terus meningkat sampai pada konsentrasi 800 mg/mL. Akan tetapi efektivitas ekstrak saponin hasil isolasi sebagai antimikroba terhadap *s. aureus* memberikan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan zona hambat antibiotik standar (pinisilin), jadi treatmen ekstrak kasar saponin pada penelitian ini termasuk dalam kategori resisten dalam menghambat pertumbuhan bakteri *s. aureus*.

4. Zona hambatan terhadap *e. coli* ditunjukkan pada konsentrasi 300 mg/mL. Pada konsentrasi 300 mg/mL dan terus mengalami peningkatan zona hambat sampai konsentrasi 1000 mg/mL. Akan tetapi efektivitas ekstrak saponin hasil isolasi memberikan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan zona hambat antibiotik standar (streptomycin), jadi treatment ekstrak kasar saponin pada penelitian ini termasuk dalam kategori resisten dalam menghambat pertumbuhan bakteri *e. coli*.

## 5.2. Saran

Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut untuk mengetahui efektivitas antimikroba saponin dari batang belimbing wuluh yang sesungguhnya, demikian pula perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada proses fraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dan kolom kromatografi untuk mengetahui jenis saponin yang terdapat pada batang belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi* linn). Penelitian lebih lanjut juga perlu dilakukan untuk mengetahui struktur senyawa saponin pada batang belimbing wuluh dengan menggunakan spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti Proton ( $^1\text{H-NMR}$ ).

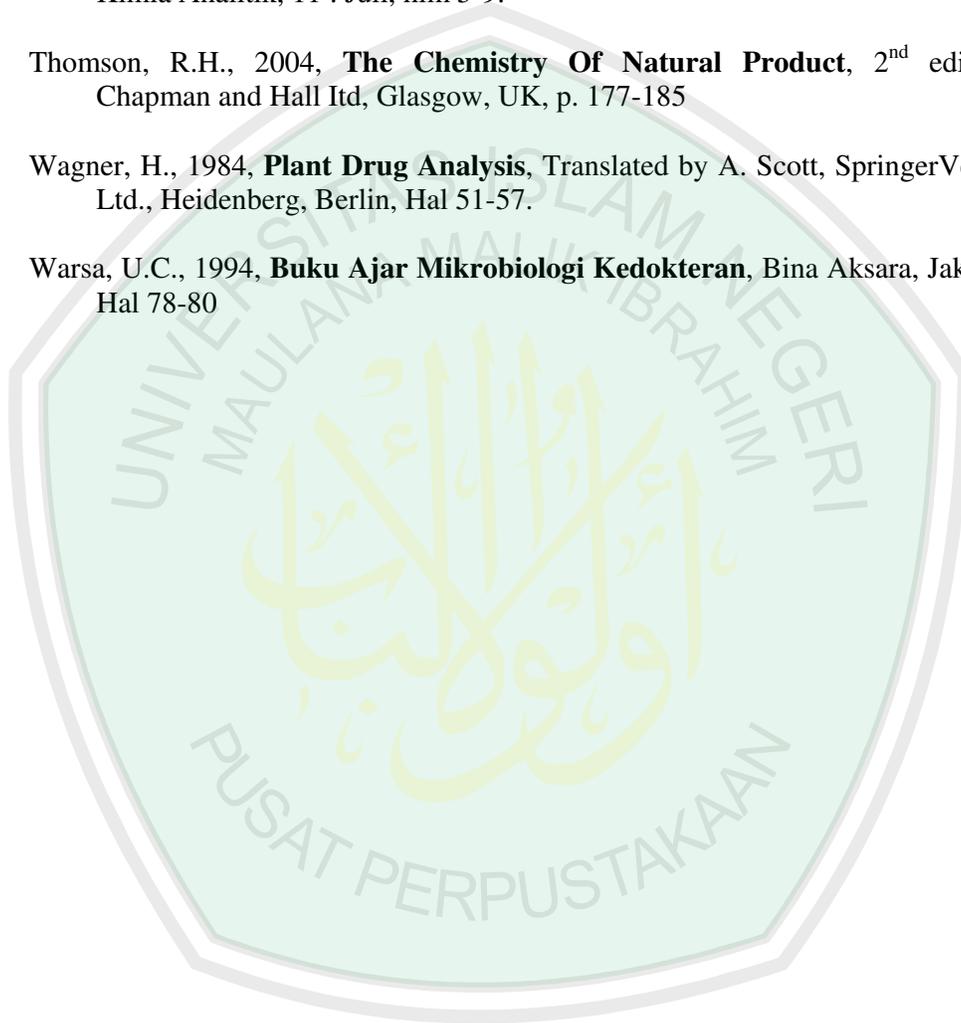
## DAFTAR PUSTAKA

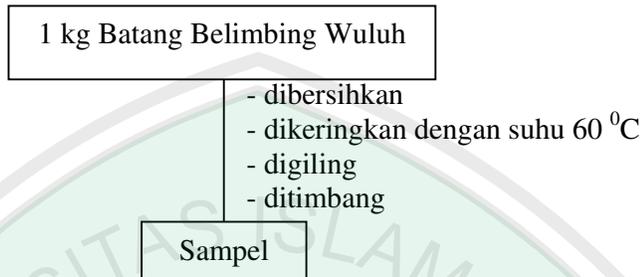
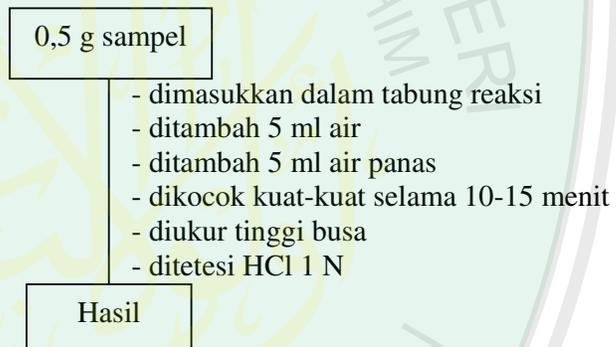
- Al-Jauziyah, I.Q., 2007, **Metode Pengobatan Nabi SAW**, Penerbit Griya Ilmu, Jakarta, hal 316-415
- Anonymous, 2005, **Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)**, Ensiklopedia Bebas Berbahasa Indonesia, [http://id.wikipedia.org/wiki/Belimbing\\_wuluh](http://id.wikipedia.org/wiki/Belimbing_wuluh), diakses tanggal 10 Maret 2007
- As-Sa'dy, A.R., 2007, **Tanda-Tanda Kekuasaan Allah Dalam Pertanian**, <http://abuabdilbarr.wordpress.com/2007/06/20/tanda-tanda-kekuasaan-alloh-subhanahu-wa-ta%E2%80%99ala-dalam-pertanian/>, diakses tanggal 19 Agustus 2007
- Barazing, H., 2007, **Pengobatan Aman Cara Nabi: Herba Sebagai Pengobatan Modern Alternatif, Tinjauan Medis Dan Syariat Islam**, <http://hohanb.webs.com/>, diakses tanggal 03 Maret 2008
- Bedir, E., H. Kirmizipekmez, O., Sticher, I., Calis, 2000, **Triterpene Saponin From The Fruit Of Hedera Helix**, *Locate/Phytochemistry*. Vol.53, pp.905-909, diakses 20 desember 2005
- Bonang, G., Dan Koeswardono, E.S., 1982, **Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium Dan Klinik**, Penerbit PT Gramedia, Jakarta, Hal 72
- Brock, T.D., Madigan, M.T., Martinko, J.M., And Jack, P., 1994, **Biology Of Microorganisms, 6<sup>th</sup> Edition**, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, p. 571-572 .
- Cheeke, R.P., 2004, **Saponins : Surprising Benefits Of Desert Plants**, Linus Pailing Institute, USA, p. 621-632.
- Clark, T.J., 2004, **Saponin**, [www.marz.kreations.com.wildplants.CRYO/Doccs/Silvu](http://www.marz.kreations.com.wildplants.CRYO/Doccs/Silvu), diakses 10 desember 2004
- Dalimartha, S., dkk, 2005, **Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)**, [http://www.iptek.net.id/ind/pd\\_tanobat/view.php?id=69](http://www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=69), diakses tanggal 19 Agustus 2007.
- Dzen, S.M. dkk, 2003, **Bakteriologi Medik**, Editor=S.M. Dzen El.Al, Bayu Media Publishing, Malang, Hal 375-385
- Edeoga, H.O., Okwu, D.E. and Mbaebie, B.O., 2005, **Phytochemical Constituents Of Some Nigerian Medicinal Plant**, *African Journal Of Biotechnology*, p. 685-688

- Fardiaz, S., 1993, **Analisis Mikrobiologi Pangan**, Raja Grafindo Perkasa, Jakarta, Hal 197.
- Farooqi, M.I.H., 2005, **Terapi Herbal Cara Islam Manfaat Tumbuhan Menurut Al-Quran Dan Sunnah Nabi**, Penerbit Hikmah (P.T. Mizan Publika), Jakarta, Hal 126
- Ganiswarna, S.G, 1995, **Farmakologi Dan Terapi**, Gaya Baru, Jakarta, Hal 572-573
- Guenther, E., 1997, **Minyak Atsiri**, Jilid 5, Alih Bahasa Ketaren, Universitas Indonesia-Press, Jakarta, Hal 59
- Gusdinar, K., 2006, **Isolasi Saponin Dari Buah Averrhoa Carambola Linn**, <http://fa.lib.itb.ac.id/go.php?id=jbptitbfa-gdl-s1-1977-tutusgusdi-1630>, diakses tanggal 10 Agustus 2007.
- Harbourne, J.B., 2002, **Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan**, Diterjemahkan Oleh K. Padmawinata Dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung, Hal 49-188
- Hostettmann, K., Hostettman, M., dan Marston, A., 1995, **Cara Kromatografi Preparatif Dan Isolasi Senyawa Alam**, Penerbit ITB, Bandung, Hal 112-114
- Huan, VD., Yamamura, S., Ohtani, K., Kasai, R., Yamazaki, K., Nham, TN., and Chau, MH., 1998, **Oleanana Saponin From Polyscias sp.**, Journal Of Phytochemistry, Vol. 47, pp. 451-457
- Hugo, W.B. and Russell, A.D., 1998, **Pharmaceutical Microbiologi**, 6<sup>th</sup> edition, blackwell science, oxford, p. 33-35, 51.
- Irmanida, B., 2003, **Saponin Akar Kuning (Arcangelisia Flava (L) Merr) sebagai Hepatoprotektor: Ekstraksi, Pemisahan, Dan Bioaktivitasnya**, Tesis-Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Jasmansyah, 2002, **Isolasi Saponin dan Sapogenin Triterpenoid Dari Daging Buah Sapindus Rarak D.C.**, <http://www.chemical/land21.com>. (Abstrak), 12 November 2004
- Jawetz, Ernest, Joseph L. Melnick., dan Edward A., 1996, **Mikrobiologi Kedokteran**, Jakarta EGC, hal 238-239
- Kristianingsih, 2005, **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Dari Akar Tanaman Kedondong Laut (Polyscias Fruticosa)**, Tugas Akhir FMIPA-UB, Malang

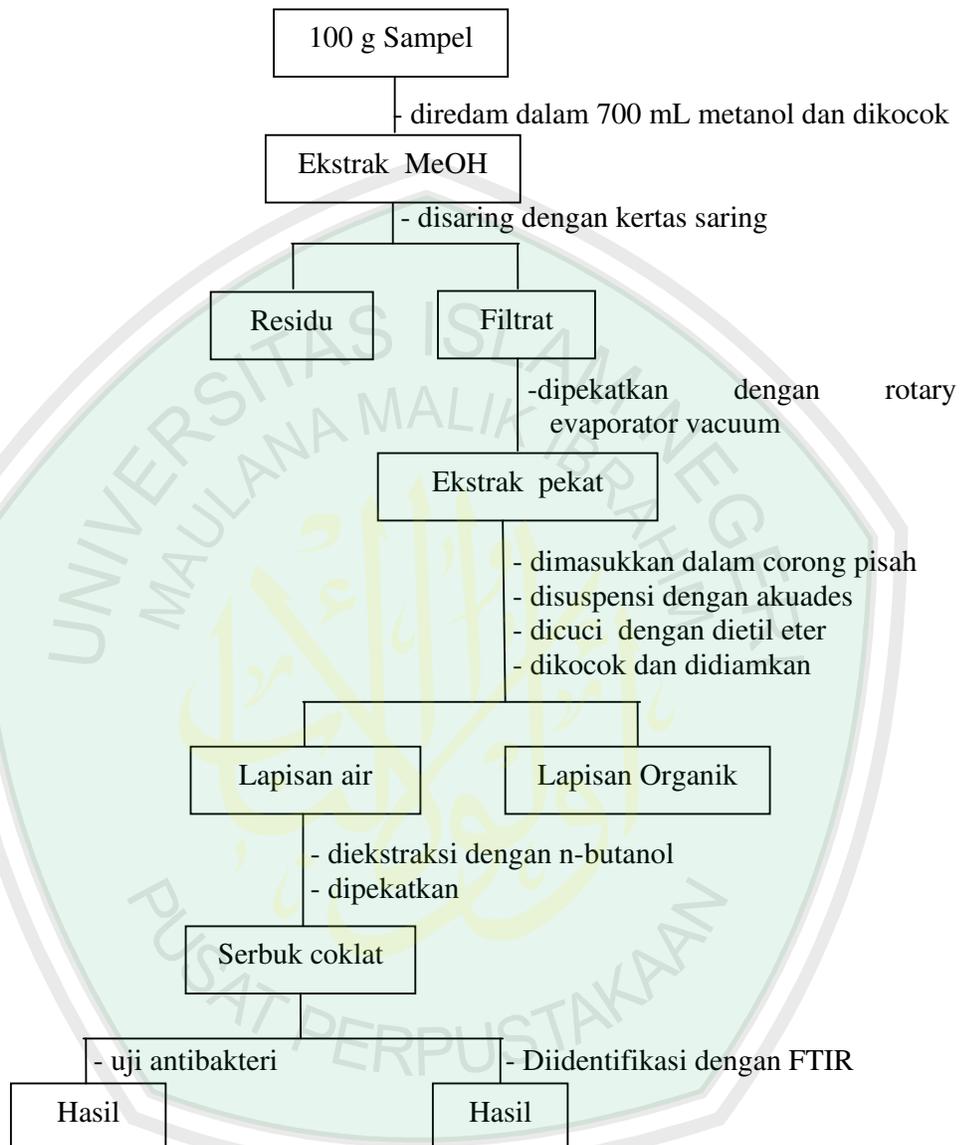
- Louis, FG., 2004, **Saponin Glycosides**, Georges Luis a friedli.com, [http://www.friedlii.com/herbs\\_phytochem\\_glycosides.html](http://www.friedlii.com/herbs_phytochem_glycosides.html), 30 September 2005
- Oleszek, W.A., 2002, **Chromatographic Determination Of Plant Saponins**, Journal Of Chromatography, Vol. 967, pp. 147-162, [www.elsevier.com/locate/chromatography](http://www.elsevier.com/locate/chromatography), 10 Desember 2004
- Pelczar, M.J., and Chan, E.C.S., 1986, **Dasar-Dasar Mikrobiologi**, UI-Press, Jakarta, Hal 117
- Prescott, L.M., and P. Harley, O.A.K., 2002, **Microbiology**, fifth editor McGraw-Hill Companies Inc. New York, Hal 303-307
- Purnobasuki, H., 1998, **Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat**, <http://www.plasa.com/forum/thread.php?threadid=42818&boardid=77&styleid=4&sid=f70d22c11b01ee136e362ad8d103242a9>, Biota Vol. III (2) diakses tanggal 7 Mei 2007
- Robinson, T., 1995, **Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi**, Diterjemahkan Oleh Prof.Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, hal 157.
- Salsa, 2003, **Belimbing Wuluh Obat Batuk**, Jokam My Salsabilla, <http://members.lycos.co.uk/mysalsabilla/forum/vewthread.php?tid=64> diakses 16 Februari 2004
- Samukawa, K., Yamashita, H., Matsuda, H., and Kubo, M., 1995, **Simultaneous Analysis of Ginsenosides of Various Ginseng Radix by HPLC**, Kinki University, Osaka, Japan, p. 256
- Sastroamidjojo, 1992, **Spektrofotometri Infra Merah**, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta, hal 3-4
- Socrates, G., 1980, **Infrared Characteristic Group Frequencies Tabel And Chart Secon Edition**, Brunel, The University Of Weast London, p. 35-102.
- Soetan, K.O., dkk, 2006, **Evaluation Of The Antimicrobial Activity Of Saponins Extract Of *Sorghum Bicolor* L. Moench**, African Journal Of Biotechnology Vol. 5 (23), Pp.2405-2407
- Song, J.S., Nakamura, N., Mei Ma, C., Hattori, M. and Xu Xu, S., 2001, **Five Saponin From The Root Bark Of *Aralia Elata***, Journal of Phytochemistry, Vol. 56, pp. 491-497, [www.elsevier.com/locate/phytochemistry](http://www.elsevier.com/locate/phytochemistry), diakses 20 Desember 2005

- Syahrurachman, A., dkk., 1994, **Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran**, Bina Rupa Aksara, Jakarta, Hal 98-100
- Tahid, 1994, **Spektroskopi Infra Merah Fourier Transform (FT-IR)**, WARTA Kimia Analitik, 11 : Juli, hlm 5-9.
- Thomson, R.H., 2004, **The Chemistry Of Natural Product**, 2<sup>nd</sup> edition, Chapman and Hall Ltd, Glasgow, UK, p. 177-185
- Wagner, H., 1984, **Plant Drug Analysis**, Translated by A. Scott, SpringerVerlag Ltd., Heidenberg, Berlin, Hal 51-57.
- Warsa, U.C., 1994, **Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran**, Bina Aksara, Jakarta, Hal 78-80

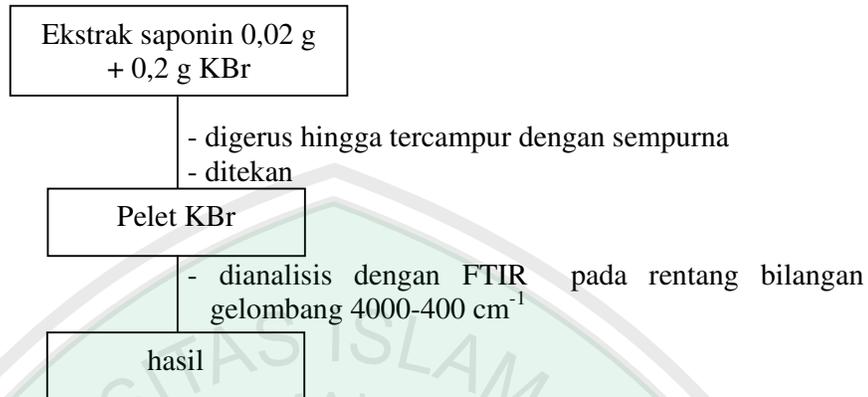


**Lampiran 1.****Skema Kerja Penelitian****3.5.1. Preparasi Sampel****3.5.2. Uji Kualitatif****3.5.2.1. Uji Busa**

### 3.5.3. Ekstraksi Sampel

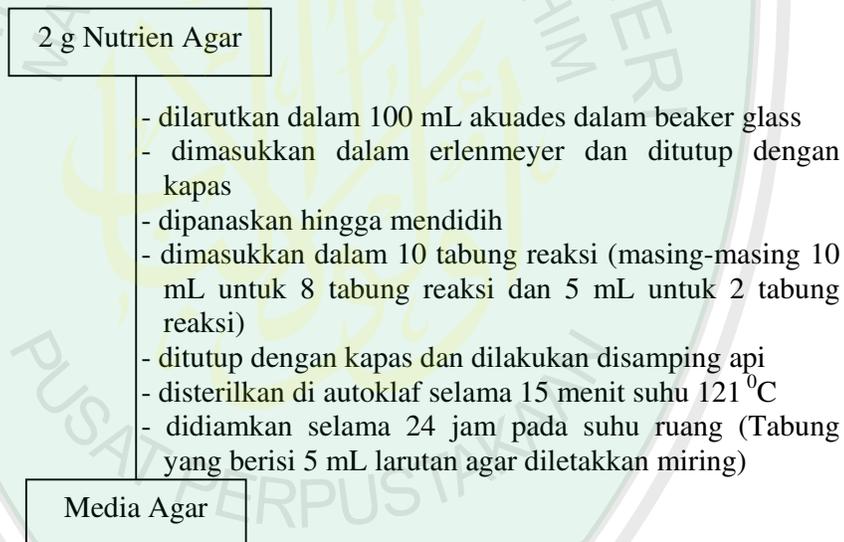


### 3.5.4. Identifikasi dengan FTIR

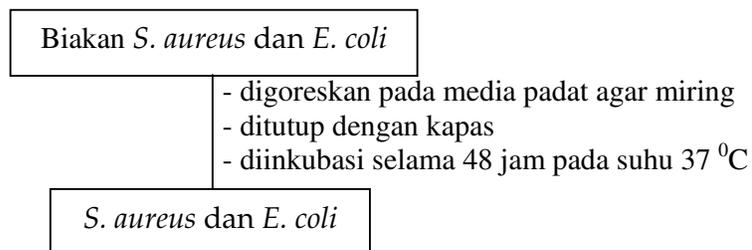


### 3.5.5. Uji Antimikroba

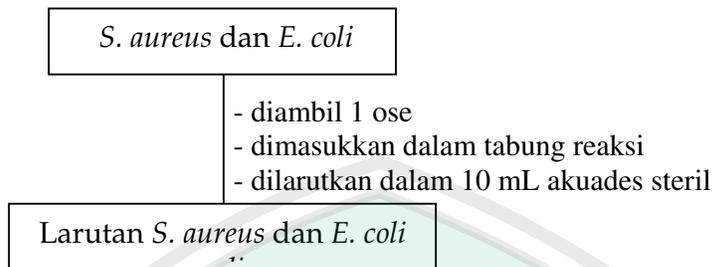
#### 3.5.5.1. Pembuatan Media



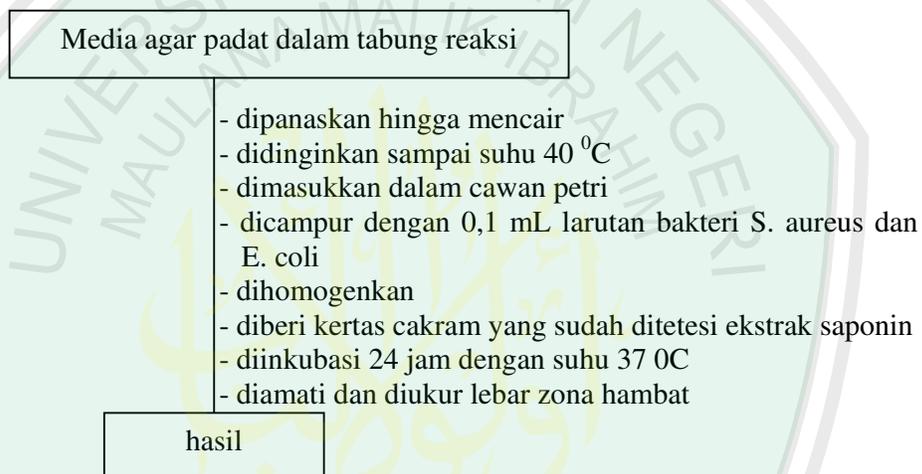
#### 3.5.5.2. Peremajaan Biakan Murni *S. aureus* dan *E. coli*



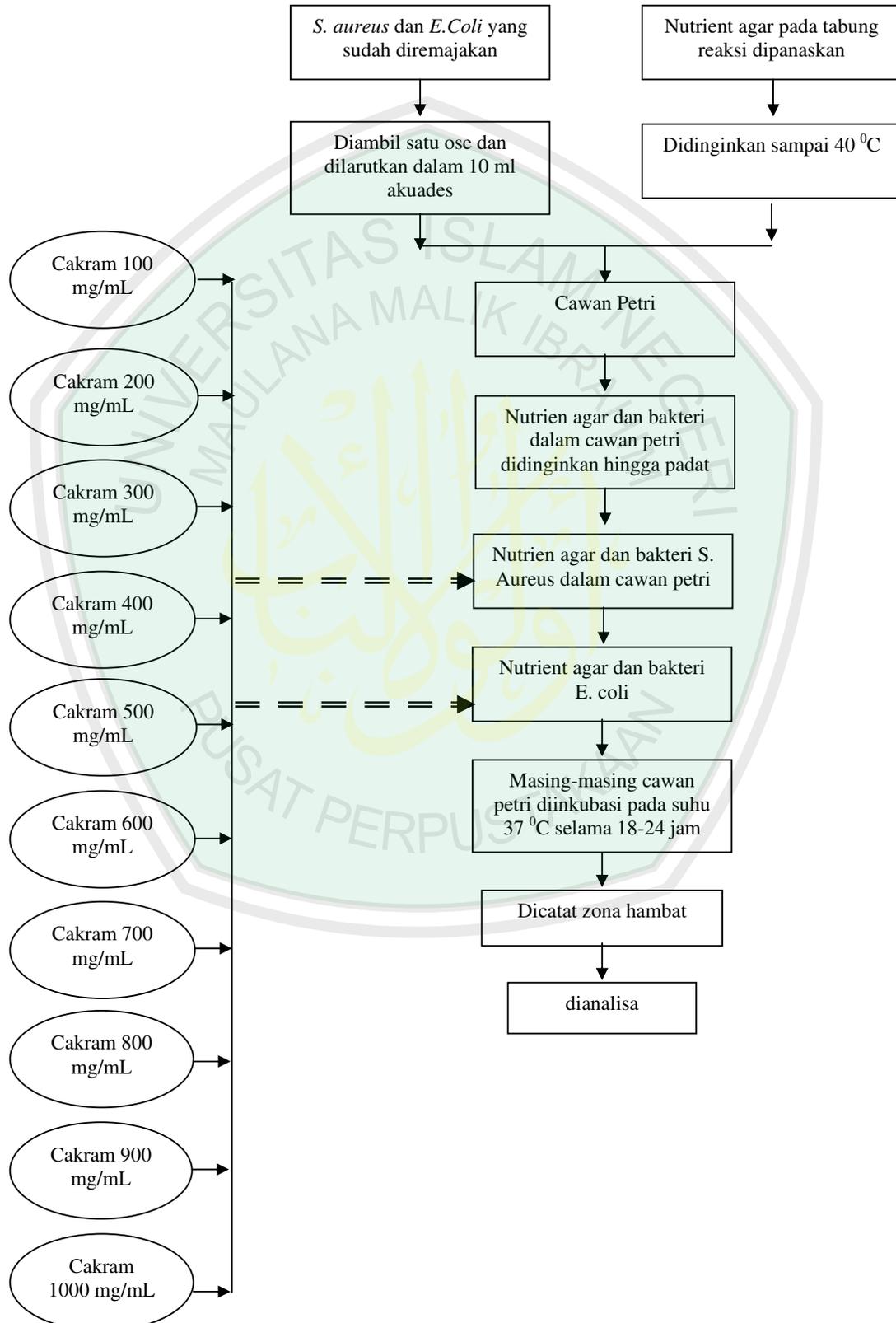
### 3.5.5.3. Pembuatan Larutan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*



### 3.5.5.4. Uji Anti Bakteri



## Lampiran 2. Penempelan Cakram



### Lampiran 3.

#### Besar Kadar Ekstrak Saponin Dalam 1 Cakram Pada Tiap-Tiap Konsentrasi (Kekuatan Cakram)

- 10% = 0,1 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 100 \text{ mg/mL} = 100000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 100 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $100 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 450 \text{ } \mu\text{g}$
- 20% = 0,2 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 200 \text{ mg/mL} = 200000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 200 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $200 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 900 \text{ } \mu\text{g}$
- 30% = 0,3 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 300 \text{ mg/mL} = 300000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 300 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $300 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 1350 \text{ } \mu\text{g}$
- 40% = 0,4 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 400 \text{ mg/mL} = 400000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 400 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $400 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 1800 \text{ } \mu\text{g}$
- 50% = 0,5 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 500 \text{ mg/mL} = 500000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 500 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $500 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 2250 \text{ } \mu\text{g}$
- 60% = 0,6 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 600 \text{ mg/mL} = 600000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 600 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $600 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 2700 \text{ } \mu\text{g}$
- 70% = 0,7 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 700 \text{ mg/mL} = 700000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 700 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $700 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 3150 \text{ } \mu\text{g}$

- 80% = 0,8 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 800 \text{ mg/mL} = 800000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 800 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $800 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 3600 \text{ } \mu\text{g}$
- 90% = 0,9 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 900 \text{ mg/mL} = 900000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 900 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $900 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 4050 \text{ } \mu\text{g}$
- 100% = 1 gram ekstrak + 1 mL n-butanol  
 $= 1000 \text{ mg/mL} = 1000000 \text{ } \mu\text{g}/1000 \text{ } \mu\text{L} = 1000 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram berisi 4,5  $\mu\text{L}$  ekstrak saponin  
 jadi kadar 1 cakram =  $1000 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 4,5 \text{ } \mu\text{L} = 4500 \text{ } \mu\text{g}$

#### **Kontrol Positif**

- **Kontrol positif *E. Coli***  
 Besarnya kadar streptomycin pada 1 cakram  
 Streptomycin  $\rightarrow 6,25 \text{ mg} + 1 \text{ mL aquades} = 6,25 \text{ mg/mL}$   
 Jika streptomycin diencerkan dalam 100 ml aquades, maka  
 $625 \text{ mg} / 100 \text{ mL} = 625000 \text{ } \mu\text{g}/100000 \text{ } \mu\text{L} = 6,25 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram ditetesi 1,6  $\mu\text{L}$  streptomycin  
 jadi kadar streptomycin tiap cakram =  $6,25 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 1,6 \text{ } \mu\text{L} = 10 \text{ } \mu\text{g}$
- **Kontrol positif *S. Aureus***  
 Besarnya kadar pinisilin pada 1 cakram  
 Pinisilin G.  $\rightarrow 25 \text{ mg} + 1 \text{ mL aquades} = 25 \text{ mg/mL}$   
 Jika pinisilin diencerkan dalam 100 ml aquades, maka  
 $2500 \text{ mg}/100 \text{ mL} = 2500000 \text{ } \mu\text{g}/100000 \text{ } \mu\text{L} = 25 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L}$   
 1 cakram ditetesi 0,4  $\mu\text{L}$  pinisilin  
 jadi kadar pinisilin tiap cakram =  $25 \text{ } \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 0,4 \text{ } \mu\text{L} = 10 \text{ } \mu\text{g}$

#### Lampiran 4.

Pembuatan Reagen Uji Pendahuluan

Pembuatan HCl 1 N

BJ HCl pekat = 1,19 g/mL

Konsentrasi = 37 %

BM HCl = 36,42 g/mol

$$\text{Normalitas} = \frac{37\% \times \text{BJ HCl pekat}}{\text{BM HCl pekat} \times \text{volume}}$$

$$= \frac{37\% \times 1,19 \text{ g/mL}}{36,42 \times 0,001 \text{ L}}$$

$$= 12,08$$

Maka :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$100 \text{ mL} \times 1 \text{ N} = V_2 \times 12,08 \text{ N}$$

$$V_2 = 8,29 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

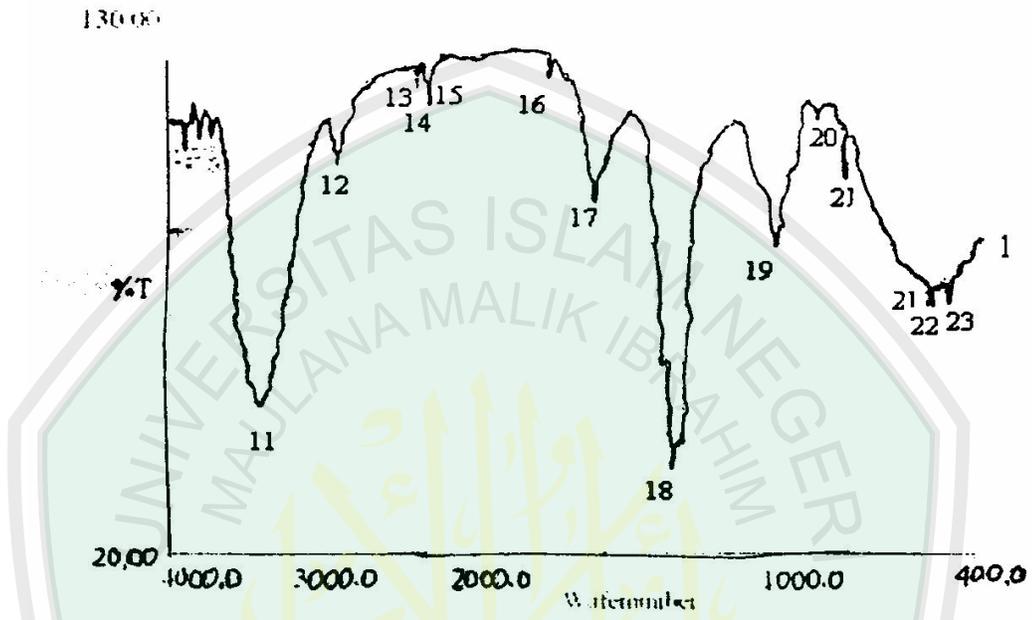
Jadi dipipet 8,3 larutan HCl pekat 37 % dimasukkan dalam labu ukur 100 mL. Kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda batas dan dikocok sampai homogen.

## Lampiran 5.

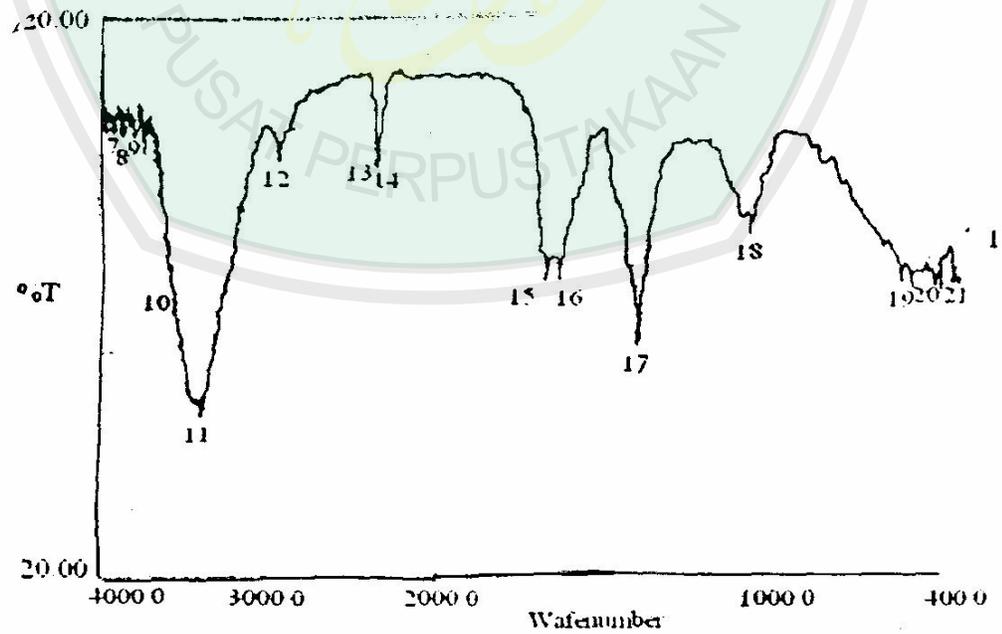
**DAFTAR UKURAN DAERAH HAMBATAN PELBAGAI  
ANTIBIOTIKA DAN KHEMOTERAPETIKA (Bonang, G., dan  
Koeswardono, E.S., 1982)**

Antibiotik Atau Khemoterapetika	Kekuatan cakram	Garis tengah daerah hambatan (mm)		
		Resistens	Agak resisten	Peka
Ampisilin				
Batang gram negatif dan enterokokus	10 µg	11 atau kurang	12-13	14 atau lebih
Stafilokokus Dan Jasad Jasad renik Yang Peka Terhadap Penisilin	10 µg	20 atau kurang	21-8	29 atau lebih
<i>Haemophilus</i>				20 atau lebih
Basitrasin	10 satuan	8 atau kurang	9-12	13 atau lebih
Sefaloridin	30 µg	11 atau kurang	12-15	16 atau lebih
Sefalotin	30 µg	14 atau kurang	15-17	18 atau lebih
Khloramfenikol	30 µg	12 atau kurang	13-17	18 atau lebih
Kolistin	10 µg	8 atau kurang	9-10	11 atau lebih
Eritromisin	15 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Gentamisin	10 µg			13 atau lebih
Kanamisin	30 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Linkomisin	2 µg	9 atau kurang	10-14	15 atau lebih
Metisilin	5 µg	9 atau kurang	10-13	14 atau lebih
Nafsilin	1 µg	10 atau kurang	11-12	13 atau lebih
"Nalidixic acid"	30 µg	13 atau kurang	14-18	19 atau lebih
Neomisin	30 µg	12 atau kurang	13-16	17 atau lebih
Novobiosin	30 µg	17 atau kurang	18-21	22 atau lebih
Nitrofurantoin	300 µg	14 atau kurang	15-16	17 atau lebih
Oleandomisin	15µg	11 atau kurang	12-16	17 atau lebih
Penisilin G				
- <i>Staphylococcus</i>	10 µg	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
Lain jasad renik	10 µg	11 atau kurang	12-21	22 atau lebih
Polimixin B	300 unit	8 atau kurang	9-11	12 atau lebih
Streptomisin	10 µg	11 atau kurang	12-14	15 atau lebih
Sulfonamida	300 unit	12 atau kurang	13-16	17 atau lebih
Tetrasiklin	30 µg	14 atau kurang	15-18	19 atau lebih
Vankomisin	30 µg	9 atau kurang	10-11	12 atau lebih

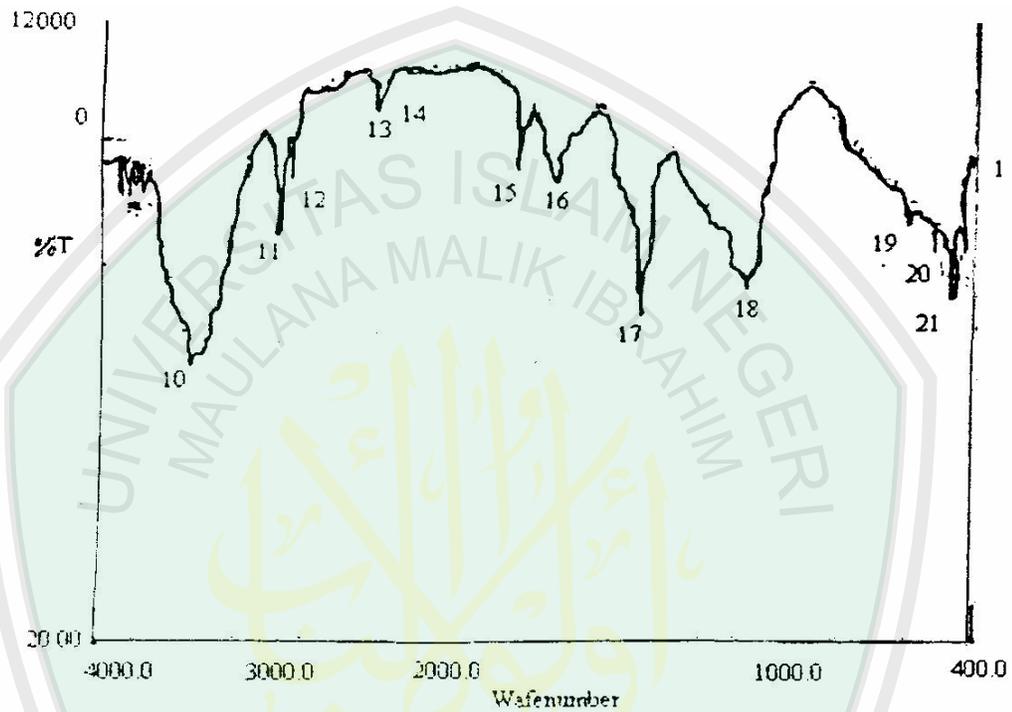
**Lampiran 6.**  
**Spektra IR Senyawa Saponin Pada Akar Kedondong Laut**  
**(Kristianingsih, 2005)**



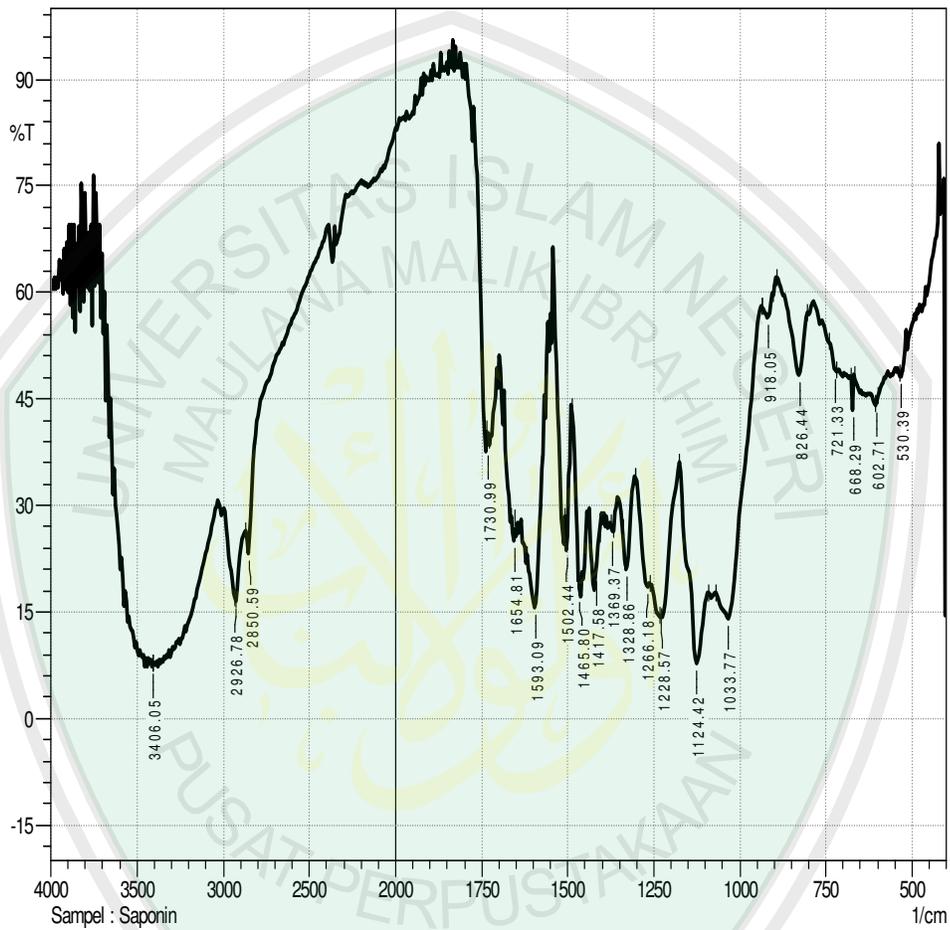
**Gambar 1. Spektra IR Isolate 1 Saponin Pada Akar Kedondong Laut**  
**3-0- $\beta$ -D-Glukopiranosil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-Glukopiranosil**



**Gambar 2. Spektra IR Isolate 2 Saponin Pada Akar Kedondong Laut**  
**3-0- $\beta$ -D-Glukopiranosil (1 $\rightarrow$ 2)  $\beta$ -D-Glukopiranosil (1 $\rightarrow$ 3)  $\beta$ -D-Glukopiranosil**



**Gambar 3. Spektra IR Isolat 3 Saponin Pada Akar Kedondong Laut**  
**3-0- $\beta$ -D-Glukopiranosil**

**Lampiran 7.****Spektra FTIR Saponin Hasil Sintesis dari batang belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi* Linn)**

**Lampiran 8.****Data Pengamatan Penelitian****1. Uji Busa**

<b>No</b>	<b>Perlakuan</b>	<b>Hasil pengamatan</b>
1	0,5 g sampel dimasukkan dalam tabung reaksi	Serbuk Sampel berwarna putih kekuningan
2	Ditambah 0,5 ml air panas	Sampel tidak larut dalam air Warna air bening dan keruh
3	Ditambah 0,5 ml air	Sampel tidak larut dalam air
4	Dikocok kuat-kuat selama 10-15 menit	
5	Diamati busa yang timbul	Timbul busa
6	Ditetesi dengan HCl 1 N	
7	Diamati dan diukur busa yang timbul	Tinggi busa 1 cm dengan diameter 1,5 cm

## 2. Ekstraksi

No	Perlakuan	Hasil pengamatan
1	100 g sampel dimasukkan dalam Erlenmeyer 1000 ml	-Serbuk sampel putih kekuningan
2	Direndam dalam 700 ml metanol 80 % dan dikocok tiap 2 jam selama 24 jam	-Warna larutan kuning menjadi warna coklat
3	Ekstrak disaring	-Warna filtrat coklat 350 ml -Bau ekstrak batang belimbing
4	Dipekatkan dengan <i>rotary evaporator vacuum</i>	-Warna filtrat coklat keruh menjadi coklat pekat dan terdapat endapan coklat tua -Bau menyengat -ekstrak pekat sebanyak 5 ml dan endapan coklat tua
5	Dimasukkan corong pisah Disuspensi dengan aquades 20 ml	-Filtrate coklat pekat dan endapan menjadi coklat keruh
6	Dicuci dengan dietil eter	-Sebanyak 10 ml
7	Dikocok dan didiamkan	-Terbentuk dua lapisan -Atas lapisan dietil eter warna coklat -Bawah lapisan air warna kuning kecoklatan
8	Lapisan air diambil	-Warna kuning kecoklatan 25 ml
9	Diekstraksi dengan n-butanol dan didiamkan	-Terbentuk dua lapisan -Atas lapisan n-butanol warna kuning agak coklat -Bawah lapisan air warna kuning
10	Lapisan n-butanol diambil	-Warna kuning agak coklat 10 ml
11	Dipekatkan dengan <i>rotary evaporator vacuum</i>	-Serbuk berwarna coklat -Bau seperti jamu
12	ditimbang	3,35 gram

### 3. Identifikasi Saponin dengan Menggunakan Spektrofotometer FTIR

No	Perlakuan	Hasil pengamatan
1	Sampel diambil 0,02 g	Serbuk berwarna coklat
2	ditambah 0,2 g KBr	Berwarna putih
3	digerus hingga tercampur dengan sempurna	bercampur
4	campuran ditekan hingga diperoleh pelet KBr	Pelet KBr
5	dianalisis dengan FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000-400 $\text{cm}^{-1}$ dengan kondisi sebagai berikut : <i>Resolution</i> : 4 <i>Scans</i> : 16 <i>Gain</i> : 10 <i>Apodiazation</i> : CS.	Kromatogram

#### 4. Uji Antimikroba

No	Perlakuan	Hasil pengamatan
1	Media agar berisi 10 mL nutrisi agar dipanaskan	mencair
2	didinginkan sampai suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$	Berupa cairan
3	dimasukkan dalam cawan petri	Media agar dalam cawan petri
4	dicampur dengan 0,1 mL larutan bakteri <i>S. Aureus</i> dan <i>E. Coli</i>	Larutan bakteri berwarna putih keruh
5	dihomogenkan	Homogen
6	Menyiapkan ekstrak dengan variasi konsentrasi (100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 mg/mL)	Ekstrak saponin
7	Menyiapkan Kontrol positif untuk bakteri <i>S. Aureus</i> menggunakan penisilin 25 mg/mL dengan volume 0,4 $\mu\text{L}$	Larutan penisilin
8	Kontrol positif untuk bakteri <i>E. Coli</i> menggunakan streptomycin 62,5 mg/mL dengan volume 1,6 $\mu\text{L}$	Larutan streptomycin
9	n-butanol (sebagai kontrol negatif)	n-butanol
10	Paper disk direndam selama 15 menit pada tiap-tiap larutan masing-masing dua paper disk	Paper disk dalam ekstrak
11	Paper disk diletakkan di atas permukaan media	Paper disk mengandung ekstrak
12	Selanjutnya diinkubasi pada suhu $37^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam	muncul daerah hambatan atau zona hambat
13	diukur diameter daerah jernih menggunakan jangka sorong	data

**Lampiran 9.****Kadar Ekstrak Saponin Pada Batang Belimbing Wuluh**

- \* Kadar ekstrak saponin hasil isolasi yang pertama

$$\% \text{ kadar} = \frac{\text{berat ekstrak saponin (g)}}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,3661 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 0,37 \% \text{ b/b}$$

- \* Kadar ekstrak saponin hasil isolasi yang kedua

$$\% \text{ kadar} = \frac{\text{berat ekstrak saponin (g)}}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,3349 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \%$$

$$= 0,33 \% \text{ b/b}$$

### Lampiran 10.

#### 1. Hasil Zona Hambat Ekstrak Saponin dari Batang Belimbing Wuluh

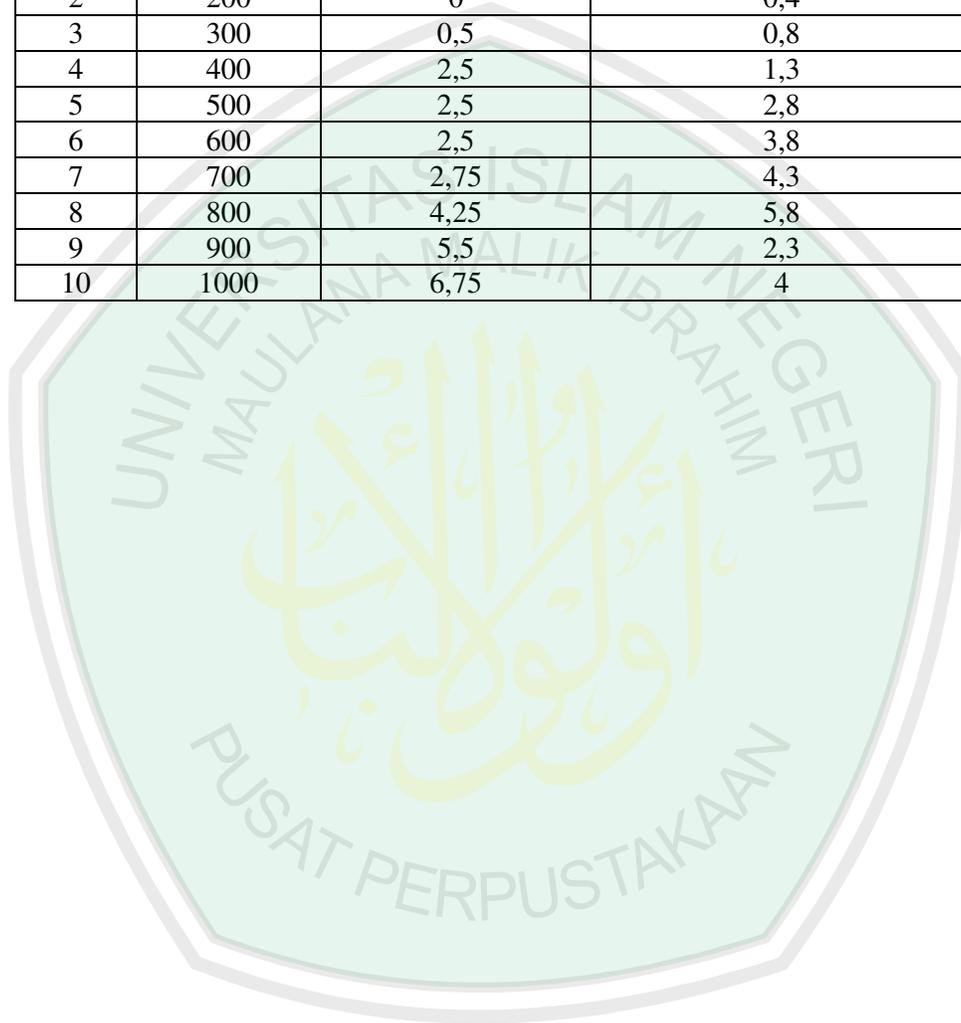
N0	Konsentrasi (mg/mL)	Zona Hambat (mm)			
		E. Coli		S.Aureus	
1	100	1,5	1,5	1,7	1,7
2	200	1,5	1,5	1,7	2,5
3	300	2	2	2,5	2,5
4	400	4	4	3	3
5	500	4	4	4	5
6	600	4	4	5,5	5,5
7	700	4	4,5	5,5	6,5
8	800	5,5	6	7,5	7,5
9	900	7	7	5	3
10	1000	8	8,5	4	4
11	Control + (penisilin dan streptomycin)	13	13	15	15
12	Control – (n-butanol)	1,5	1,5	1,7	1,7

#### 2. Hasil Zona Hambat Ekstrak Saponin dari Batang Belimbing Wuluh Dikurangi Control Negatif

N0	Konsentrasi (mg/mL)	Zona Hambat (mm)			
		E. Coli		S.Aureus	
1	100	0	0	0	0
2	200	0	0	0	0,8
3	300	0,5	0,5	0,8	0,8
4	400	2,5	2,5	1,3	1,3
5	500	2,5	2,5	2,3	3,3
6	600	2,5	2,5	3,8	3,8
7	700	2,5	3	3,8	4,8
8	800	4	4,5	5,8	5,8
9	900	5,5	5,5	3,3	1,3
10	1000	6,5	7	2,3	2,3

## 3. Zona Hambat Rata-Rata

N0	Konsentrasi (mg/mL)	Zona Hambat (mm)	
		E. Coli	S.Aureus
1	100	0	0
2	200	0	0,4
3	300	0,5	0,8
4	400	2,5	1,3
5	500	2,5	2,8
6	600	2,5	3,8
7	700	2,75	4,3
8	800	4,25	5,8
9	900	5,5	2,3
10	1000	6,75	4



**Lampiran 11.**  
**Gambar-gambar dan Hasil Pengamatan**



Gambar 1. Serbuk Saponin



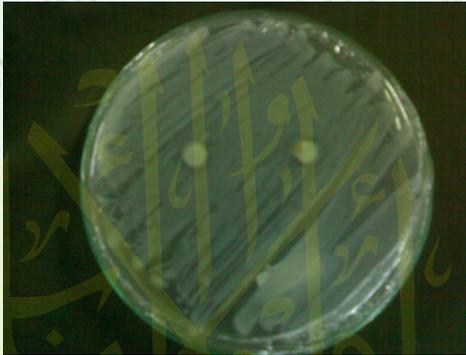
Gambar 2. Uji Busa Sampel Batang Belimbing Wuluh



Gambar 3. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 100 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 4. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 200 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 5. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 300 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 6. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 400 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 7. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 500 mg/mL Ekstrak Saponin



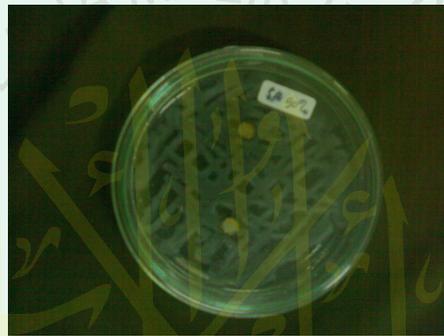
Gambar 8. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 600 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 9. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 700 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 10. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 800 mg/mL Ekstrak Saponin



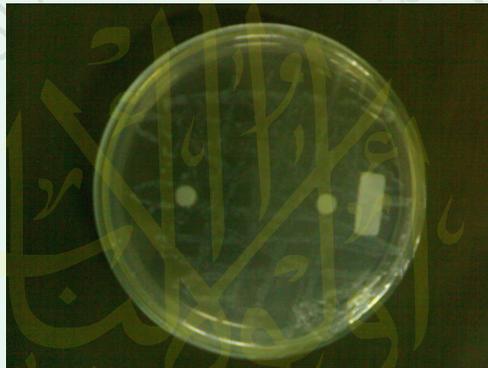
Gambar 11. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 900 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 12. Hasil Pengamatan Bakteri *S. Aureus* dengan Konsentrasi 1000 mg/mL Ekstrak Saponin



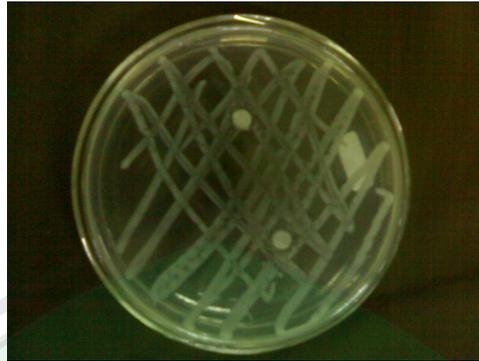
Gambar 13. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 100 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 14. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 200 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 15. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 300 mg/mL Ekstrak Saponin



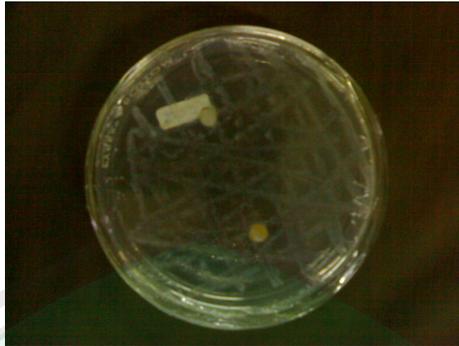
Gambar 16. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 400 mg/mL Ekstrak Saponin



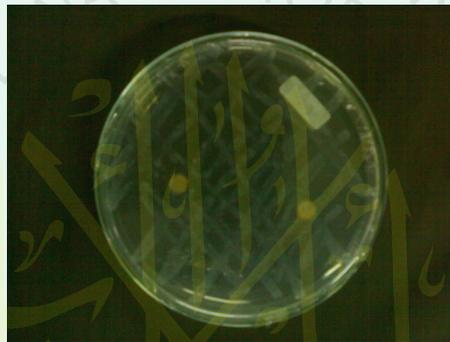
Gambar 17. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 500 mg/mL Ekstrak Saponin



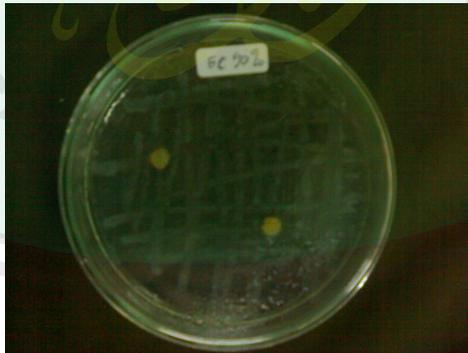
Gambar 18. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 600 mg/mL Ekstrak Saponin



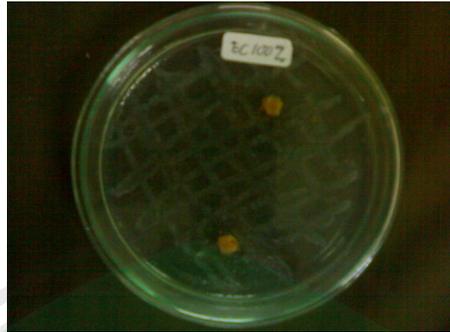
Gambar 19. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 700 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 20. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 800 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 21. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 900 mg/mL Ekstrak Saponin



Gambar 22. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan Konsentrasi 1000 mg/mL Ekstrak Saponin





Gambar 23. Hasil Pengamatan Bakteri *s. Aureus* dengan  
Pinisilin 25 mg/mL



Gambar 24. Hasil Pengamatan Bakteri *E. Coli* dengan  
Streptomycin 6,25 mg/mL