

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR SENYAWA  
ANTIBAKTERI PADA BUAH BELIMBING WULUH  
(*Averrhoa bilimbi* L.) DENGAN VARIASI PELARUT**

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**QURROTU A'YUNIN LATHIFAH**

**NIM: 03530015**



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

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR SENYAWA ANTIBAKTERI  
PADA BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)  
DENGAN VARIASI PELARUT**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:**

**Universitas Islam Negeri (UIN) Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)**

**Oleh:**

**Qurrotu A'yunin Lathifah**

**NIM: 03530015**

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

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR SENYAWA ANTIBAKTERI  
PADA BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)  
DENGAN VARIASI PELARUT**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**QURROTU A'YUNIN LATHIFAH**

**NIM: 03530015**

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Akyunul Jannah, S. Si, MP

NIP: 150 368 798

Ach. Nashichuddin, MA

NIP: 150 302 531

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Malang

Diana Candra Dewi, M. Si

NIP: 150 327 251

**UJI EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR SENYAWA ANTIBAKTERI  
PADA BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)  
DENGAN VARIASI PELARUT**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Qurrotu A'yunin Lathifah**

**NIM: 03530015**

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

**Tanggal 29 Juli 2008**

**Susunan Dewan Penguji :**

**Tanda Tangan**

- |                           |   |                  |
|---------------------------|---|------------------|
| <b>1. Penguji Utama</b>   | <b>: Diana Candra Dewi, M.Si<br/>NIP. 150 327 251</b>   | <b>( ..... )</b> |
| <b>2. Ketua Penguji</b>   | <b>: Anton Prasetyo, M.Si<br/>NIP.150 377 943</b>       | <b>( ..... )</b> |
| <b>3. Sekr. Penguji</b>   | <b>: Akyunul Jannah, S.Si., MP<br/>NIP. 150 368 798</b> | <b>( ..... )</b> |
| <b>4. Anggota Penguji</b> | <b>: Ach. Nashichuddin, MA<br/>NIP. 150 302 531</b>     | <b>( ..... )</b> |

**Mengetahui dan Mengesahkan  
Ketua Jurusan Kimia  
fakultas Sains Dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Malang**

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

“Untuk memperoleh hasil yang baik,  
kita harus memiliki 20 persen pengetahuan,  
20 persen ketrampilan,  
dan 50 persen sikap yang baik” (Kencana).

*PERSEMBAHAN*

*Kupersembahkan karya ini untuk:*

*Bundaku Nasringatun (Almh) lentera kasih sayangmu akan selalu hidup di hatiku  
Bapakku Muksin doa dan kasih sayangmu adalah kekuatan disetiap langkahku*

*Mbak Nur, Mas Sunan, Mbak Ida, Mas Roehan, Mas Ahmad, Mbak Amin yang senantiasa  
menyayangi, mendukung, dan mengajarku arti saudara*

*Lia, Zahrul, Wildan, Bella, Ziyah, Ilham, Intan saat bersama kalian selalu kurindukan*

*Sahabat '03 & Adek-adekku kimia tercinta*

*Almamater kebanggaanmu*

## MOTTO

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهْلُهُ مَنْ جَهْلُهُ وَعِلْمُهُ مَنْ عِلْمُهُ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obatnya bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.*” (HR. Ahmad 1/377, 413 dan 453. Dan hadits ini dishahihkan dalam Ash-Shahihah no. 451)



## KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan kemudahan yang selalu diberikan kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, terutama kepada:

1. Diana Candra Dewi, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
2. Akyunul Jannah, S.Si, MP, Ach. Nasichuddin, MA dan Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Nur Aini, S.Si, Moh. Taufik, S.Si dan Zulkarnain, S.Si selaku Laboran Kimia UIN Malang.
4. Catur Prabowo Widodo dan Tomo Agus Supriyantono selaku Laboran HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
5. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi yang telah banyak memberikan ilmunya.

6. Bapak, Mas, Mbak dan Keponakanku yang telah banyak dan selalu memberikan dukungan, nasihat, semangat dan doanya.
7. Erna “Vale” Rosita, “Teteh” Anita Kisni M.Q. dan Keluarga besar Gajayana 35 B yang telah memberikan bantuan, semangat dan keceriaan setiap waktu.
8. Teman-temanku uji antibakteri Fara, Nety dan Miftah yang telah memberikan arahan serta ilmunya dalam penelitian.
9. Susilowati, Diyah, Ata, Fida, Fatim, Washil, Tika, Rosi, Lilik R., Lifah, Uswatun, Ika dan semua teman-temanku kimia (angkatan '03) yang telah memberikan semangat, kerjasama dan bantuannya.
10. Semua pihak telah banyak membantu penulis demi terselesainya skripsi ini.

Akhir kata dengan jujur penulis mengakui bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi lebih sempurnanya skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis pada khususnya dan pembaca pada umumnya dan semoga penulisan skripsi ini mendapatkan ridho dari Allah SWT. Amiin.

Malang, Juli 2008

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>HALAMAN JUDUL</b>	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b>	
<b>HALAMAN MOTTO</b>	
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	i
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	v
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	vii
<b>ABSTRAK</b> .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan .....	5
1.4. Batasan Masalah .....	5
1.5. Manfaat .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Belimbing Wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi</i> L.) .....	6
2.1.1. Kandungan Kimia Buah Belimbing Wuluh .....	8
2.1.2. Manfaat Buah Belimbing Wuluh .....	10
2.2 Ekstraksi Buah Belimbing Wuluh .....	10
2.3 Uji Antibakteri .....	13
2.3.1. Antibakteri .....	13
2.3.2. Bakteri Uji .....	14
2.3.3. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri .....	16
2.4 Pengertian Senyawa Aktif .....	16
2.4.1. Alkaloid .....	17
2.4.2. Flavonoid .....	17
2.4.3. Tanin .....	18
2.4.4. Saponin .....	19
2.4.5. Triterpenoid .....	19
2.4.6. Steroid .....	20
2.5 Spektrofotometer FTIR .....	21

2.6 Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam .....	23
---	----

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	30
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	30
3.2.1. Alat Penelitian .....	30
3.2.2. Bahan Penelitian .....	30
3.3 Rancangan Penelitian .....	31
3.4 Tahapan Penelitian .....	32
3.5 Cara Kerja .....	32
3.5.1. Persiapan Sampel .....	32
3.5.2. Ekstraksi Buah Belimbing Wuluh dengan Metode Maserasi .....	32
3.5.3. Uji Efektifitas Antibakteri .....	33
3.5.3.1. Sterilisasi Alat .....	33
3.5.3.2. Penyiapan Media .....	33
3.5.3.3. Peremajaan Biakan Murni .....	33
3.5.3.4. Pembuatan Biakan Aktif .....	34
3.5.3.5. Uji antibakteri .....	34
3.5.4. Pengujian Golongan Senyawa Aktif .....	35
3.5.4.1. Uji Alkaloid .....	35
3.5.4.2. Uji Flavonoid .....	35
3.5.4.3. Uji Tanin .....	35
3.5.4.4. Uji Saponin .....	36
3.5.4.5. Uji Triterpenoid dan Steroid .....	36
3.5.5. Identifikasi Gugus Fungsi Senyawa Aktif dengan FTIR .....	36
3.6 Analisis Data .....	37

### **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Preparasi Sampel dan Pengeringan Buah Belimbing Wuluh ...	38
4.2 Metode Ekstraksi dengan Variasi Pelarut .....	39
4.3 Hasil Uji Golongan Senyawa Aktif .....	41
4.4 Pemilihan Ekstrak Terbaik Melalui Uji Antibakteri .....	45
4.5 Efektifitas Senyawa Aktif Antibakteri .....	47
4.6 Karakteristik Gugus Fungsi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh .....	51
4.7 Pemanfaatan Belimbing Wuluh dalam Perspektif Islam .....	53

### **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	58
5.2 Saran .....	58

DAFTAR PUSTAKA .....	59
----------------------	----

LAMPIRAN .....	63
----------------	----

## DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
2.1	Komposisi Buah Belimbing Wuluh .....	9
2.2	Kandungan Asam Organik Buah Belimbing Wuluh .....	9
2.3	Titik Didih dan Konstanta Dielektrikum Pelarut .....	12
2.4	Beberapa Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif .....	15
2.5	Daftar Korelasi Gugus Fungsi FTIR .....	23
4.1	Warna Filtrat dari Berbagai Pelarut .....	40
4.2	Warna dan Tekstur Ekstrak Pekat dari Berbagai Pelarut .....	40
4.3	Berat Ekstrak Pekat dari Berbagai Pelarut .....	41
4.4	Hasil Uji Golongan Senyawa Aktif .....	43
4.5	Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Berbagai Pelarut .....	46
4.6	Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol .....	48
4.7	Interpretasi Spektra FTIR dari Ekstrak Kasar BuahBelimbing Wuluh .....	52

## DAFTAR GAMBAR

No	Gambar	Halaman
2.1	Buah Belimbing Wuluh .....	6
2.2	Struktur Alkaloid .....	17
2.3	Beberapa Senyawa Flavonoid .....	18
2.4	Struktur Tanin .....	18
2.5	Kerangka Dasar Saponin .....	19
2.6	Senyawa Triterpenoid .....	20
2.7	Kerangka Dasar Steroid .....	20
4.1	Grafik Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol .....	48
4.2	Spektra FTIR dari Ekstrak Kasar Buah Belimbing Wuluh .....	51

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja .....	63
Lampiran 2. Ukuran Daerah dan Interpretasinya untuk kemoterapeutik yang sering Digunakan .....	68
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Sampel Kering .....	69
Lampiran 4. Perhitungan Kekuatan Cakram .....	70
Lampiran 5. Data Uji Antibakteri .....	71
Lampiran 6. Uji Statistik .....	72
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	76



## ABSTRAK

Lathifah, Q.A., 2008, **Uji Efektifitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri pada Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan Variasi Pelarut.**

Pembimbing Utama : Akyunul Jannah, S.Si, MP  
Pembimbing Pendamping : Ach. Nashichuddin, MA

**Kata kunci** : belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), uji golongan senyawa aktif, antibakteri.

Penelitian ini dilatar belakangi oleh Surat Al-Sajadah ayat 27 dengan tujuan untuk mengetahui pengekstrak (pelarut) terbaik, golongan senyawa aktif antibakteri dan efektifitas ekstrak kasar buah belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pada penelitian sebelumnya belum dilakukan identifikasi senyawa aktif antibakteri dalam buah belimbing wuluh, sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

Penelitian ini meliputi ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 5 jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu akuades, metanol, etanol, kloroform dan petroleum eter. Pengujian golongan senyawa aktif antibakteri dilakukan dengan metode tabung dan didukung oleh identifikasi spektrofotometer FTIR. Uji efektifitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi ekstrak 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 dan 450 mg/mL.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa etanol merupakan pelarut terbaik untuk memperoleh ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh. Hasil uji golongan senyawa aktif antibakteri menunjukkan bahwa dalam ekstrak terbaik buah belimbing wuluh terkandung golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid, hal ini didukung oleh adanya gugus O-H, C=O, C=C, CH, C-OH, cincin aromatik tersubstitusi dan C-O dari alkohol sekunder. Ekstrak kasar buah belimbing wuluh masih kurang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, namun tetap dianggap berpotensi sebagai antibakteri. Konsentrasi ekstrak 300, 350, 400 dan 450 mg/mL berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) di antara konsentrasi lain.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia sangat kaya dengan berbagai spesies flora. Dari 40 ribu jenis flora yang tumbuh di dunia, 30 ribu diantaranya tumbuh di Indonesia (Syukur dan Hernani, 2002). Kekayaan tersebut merupakan suatu anugerah besar yang diberikan Allah kepada manusia. Islam mengajarkan bahwa alam beserta isinya seperti hewan dan tumbuh-tumbuhan diciptakan untuk manusia. Manusia diberikan kesempatan yang luas untuk mengambil manfaat dari alam semesta, salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai obat. Allah berfirman:

مِنْهُ تَأْكُلُ زَرْعًا بِهِ ۖ فَخُورِجُ الْجُرُزِ الْأَرْضِ إِلَى الْمَاءِ نَسُوقُ أَنَا يَرَوْنَ أَوْلَمَ  
يُبْصِرُونَ أَفَلَا ۖ وَأَنْفُسُهُمْ أَنْعَمُهُمْ

*"Dan apakah mereka tidak memperhatikan, bahwasanya Kami menghalau (awan yang mengandung) air ke bumi yang tandus, lalu Kami tumbuhkan dengan air hujan itu tanaman yang daripadanya makan hewan ternak mereka dan mereka sendiri. Maka apakah mereka tidak memperhatikan? ". (Q.S. Al-Sajadah: 27).*

Ayat di atas menjelaskan bahwa berbagai tumbuhan diciptakan oleh Allah untuk kepentingan manusia. Manusia tidak dibenarkan hanya menikmati apa yang diciptakan oleh Allah tanpa mau berfikir dan berusaha untuk meningkatkan nilai tambah ciptaan-Nya serta mengembangkannya menjadi suatu ilmu pengetahuan (Anonymous, 2007<sup>c</sup>).

Kegiatan budidaya flora telah mencapai 26% dari total flora yang tumbuh di Indonesia. Jenis flora yang sudah dibudidayakan  $\pm$  940 jenis. Flora tersebut digunakan sebagai tanaman obat tradisional (Syukur dan Hernani, 2002). Harian Umum KOMPAS, edisi senin, 10 Oktober 1988 dalam Thomas (2007) menyebutkan bahwa di Indonesia terdapat kurang lebih 100.000 pengobatan tradisional yang tersebar pada lebih dari 65.000 desa. Pengobatan tradisional adalah pengobatan yang menggunakan obat-obatan atau ramuan dari alam yang pembuatannya tidak melibatkan bahan kimia sintesis. Pengobatan ini biasa dilakukan oleh dukun, sinshe, tabib dan sebagainya.

Pada zaman Rasulullah telah dikenal pengobatan dengan memanfaatkan tanaman, antara lain adalah habbatussauda (jintan hitam) dan minyak zaitun (Kustoro, 2007). Pemanfaatan tanaman untuk pengobatan tradisional tersebut sampai sekarang terus berkembang dan berlangsung dalam masyarakat. Jenis tanaman yang dipakai sebagai obat tradisional sangat banyak macamnya, namun pemanfaatannya masih terbatas berdasarkan pengalaman turun-temurun dari nenek moyang.

Penelitian mengenai daya antimikroba dari ekstrak tanaman terhadap pertumbuhan bakteri telah banyak dilakukan. Ardiansyah (2005) menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun beluntas terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas fluorescens*. Selain itu, Ajizah (2004) juga telah menguji efektivitas daun jambu biji dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhimurium* penyebab diare. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam jambu biji yang dapat

bersifat sebagai antibakteri adalah minyak atsiri, tanin, alkaloid, flavonoid, senyawa avicularin dan guajaverin.

Penelitian lain menguji aktivitas antimikroba dari daun sirih tanah (*Piper sarmentosum Roxb. Ex Hunter*) terhadap jamur *Candida albicans*, bakteri *E. coli*, *Basillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Senyawa aktif dalam sirih tanah yang mampu menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri tersebut adalah asam 3,5-dimetoksi-2-hidroksi-etilsinamat. Senyawa aktif ini memiliki aktivitas terbesar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penerapan hasil penelitian ini terbukti pada kebiasaan masyarakat yang memanfaatkan daun sirih tanah untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* khususnya di daerah vagina dan telapak kaki (Shinta, 2002).

Indonesia memiliki berbagai spesies tanaman yang sebenarnya dapat memberikan banyak manfaat, namun belum dibudidayakan secara khusus. Salah satunya adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Selain belum dibudidayakan secara khusus, tanaman ini juga sangat mudah didapatkan bahkan hampir tidak memerlukan biaya sama sekali.

Masyarakat Aceh memanfaatkan air belimbing wuluh yang diperoleh dari proses pembuatan asam sunti untuk mengawetkan ikan dan daging. Setelah dilakukan percobaan dan pengamatan, akhirnya disimpulkan bahwa air belimbing wuluh dapat dimanfaatkan sebagai alternatif untuk mengawetkan ikan dan daging (Irwan, 1999). Kesimpulan ini menunjukkan bahwa buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) memiliki potensi sebagai antibakteri.

Selama ini, belum diketahui senyawa kimia aktif dalam buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri. Zakaria *et al.* (2007) telah melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari daun dan buah belimbing wuluh terhadap beberapa bakteri gram positif dan negatif. Pada penelitian tersebut belum dilakukan identifikasi senyawa aktif antibakteri pada buah belimbing wuluh.

Berdasarkan latar belakang di atas, perlu dilakukan suatu penelitian untuk mendapatkan dasar teoritis dan bukti-bukti ilmiah tentang penggunaan dan golongan senyawa aktif dalam buah belimbing wuluh sebagai senyawa antibakteri. Pada penelitian ini akan dilakukan uji efektifitas senyawa aktif antibakteri pada buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan variasi pelarut dan uji golongan senyawa aktifnya.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apa pelarut terbaik untuk memperoleh ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh ?
2. Apa golongan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri ?
3. Bagaimana efektifitas ekstrak kasar buah belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* ?

### 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pelarut terbaik untuk memperoleh ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh.
2. Mengetahui golongan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri.
3. Mengetahui efektifitas ekstrak kasar buah belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

### 1.4 Batasan Masalah

Batasan penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah buah belimbing wuluh varietas hijau (panjang  $\pm 5$  cm) kering yang diperoleh dari desa Gandekan, Kecamatan Wonodadi, Kabupaten Blitar.
2. Uji antibakteri dilakukan secara *in vitro* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### 1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai pemanfaatan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam rangka pemberdayaan/usaha pembuatan obat-obatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, khususnya penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

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

Belimbing wuluh merupakan salah satu spesies dalam keluarga belimbing (*Averrhoa*). Diperkirakan tanaman ini berasal dari daerah Amerika tropik. Tanaman ini tumbuh baik di negara asalnya sedangkan di Indonesia banyak dipelihara di pekarangan dan kadang-kadang tumbuh secara liar di ladang atau tepi hutan (Thomas, 2007).



Gambar 2.1. Buah Belimbing Wuluh (Iptek, 2007)

Fisiologi tanaman ini secara umum adalah pohon kecil, tinggi mencapai 10 m dengan batang yang tidak begitu besar dan mempunyai garis tengah hanya sekitar 30 cm. Ditanam sebagai pohon buah, kadang tumbuh liar dan ditemukan dari dataran rendah sampai 500 m dpl. Belimbing wuluh mempunyai batang kasar

berbenjol-benjol, percabangan sedikit, yang cenderung mengarah ke atas. Cabang muda berambut halus seperti beludru, warnanya coklat muda. Daun berupa daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun, pucuk daun berwarna coklat muda. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur sampai lonjong, 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 batang atau percabangan yang besar, bunga kecil-kecil berbentuk bintang warnanya ungu kemerahan. Buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi hingga seperti torpedo, panjangnya 4-10 cm. Warna buah ketika muda hijau, dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Apabila buah sudah masak, maka buah berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya berair banyak dan rasanya asam (bervariasi hingga manis sebetulnya). Kulit buahnya berkilap dan tipis. Biji bentuknya bulat telur, gepeng. Perbanyakkan dengan biji dan cangkok (Iptek, 2007; Anonymous, 2007<sup>a</sup>).

Klasifikasi ilmiah buah belimbing wuluh adalah (Anonymous, 2007<sup>a</sup>) :

Kerajaan : *Plantae*  
Divisio : *Magnoliophyta*  
Kelas : *Magnoliopsida*  
Ordo : *Oxalidales*  
Familia : *Oxalidaceae*  
Genus : *Averrhoa*  
Spesies : *Averrhoa bilimbi*

Terdapat dua varietas dari tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) yaitu yang menghasilkan buah berwarna hijau dan kuning muda atau sering pula dianggap berwarna putih (Thomas, 2007). Pemeliharaan tanaman ini cukup mudah yang terpenting, ditanam ditempat terbuka, kelembaban tanah selalu dijaga, dan pohon diberi cukup air (Salsa, 2007).

### **2.1.1. Kandungan Kimia Buah Belimbing Wuluh**

Buah belimbing wuluh mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit. Belimbing wuluh mempunyai kandungan unsur kimia yang disebut asam oksalat dan kalium (Iptek, 2007). Sedangkan berdasarkan hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh yang dilakukan Herlih (1993) menunjukkan bahwa buah belimbing wuluh mengandung golongan senyawa oksalat, minyak menguap, fenol, flavonoid dan pektin. Flavonoid diduga merupakan senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam buah belimbing wuluh (Zakaria *et al.*, 2007).

Hasil identifikasi Wong and Wong (1995) menunjukkan bahwa 47,8% total senyawa volatil yang terdapat dalam buah belimbing wuluh merupakan asam alifatik, asam heksadekanoat (20,4%), dan asam yang paling dominan adalah (Z)-9-oktadekanoat. Sedangkan senyawa ester yang dominan adalah butil nikotinat (1,6%) dan heksil nikotinat (1,7%). Menurut Pino *et al.* (2004) dalam buah belimbing wuluh terkandung sekitar 6 mg/kg total senyawa volatil.

Komposisi dan kandungan asam organik dalam buah belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 2.1 dan Tabel 2.2 sebagai berikut:

Tabel 2.1. Komposisi Buah Belimbing Wuluh

Komposisi pangan	Kadar
Kelembaban	94,1 g
Energi	21 kal
Protein	0,7 g
Lemak	0,2 g
Karbohidrat	4,7 g
Serat	0,6 g
Abu	0,3 g
Kalsium	7 mg
Fosfor	11 mg
Zat besi	0,4 mg
Sodium	4 mg
Potasium	148 mg
Vitamin A	145 I.U.
Thiamin	0,01 mg
Ribovlavin	0,03 mg
Niasin	0,3 mg
Asam askorbat	9 mg

Sumber: Subhadrabandhu (2001)

Tabel 2.2. Kandungan Asam Organik Buah Belimbing Wuluh

Asam organik	Jumlah (meq asam/100 g total padatan)
Asam asetat	1,6-1,9
Asam sitrat	92,6-133,8
Asam format	0,4-0,9
Asam laktat	0,4-1,2
Asam oksalat	5,5-8,9
Sedikit asam malat	

Sumber: Subhadrabandhu (2001)

Aroma khas buah belimbing wuluh varietas hijau merupakan interaksi antara senyawa nonanal, asam nonanoat, dan (E)-2-Nonenal. Sedangkan senyawa

yang bertanggung jawab terhadap rasa pada buah belimbing wuluh adalah (Z)-3-heksenol (Pino *et al.*, 2004).

### **2.1.2. Manfaat Buah Belimbing Wuluh**

Perasan air buah belimbing wuluh sangat baik untuk asupan kekurangan vitamin C. Ada yang memanfaatkan buah belimbing wuluh untuk dibuat manisan dan sirup, sebagai obat untuk sariawan, sakit perut, gondongan, rematik, batuk rejan, gusi berdarah, sakit gigi berlubang, memperbaiki fungsi pencernaan, untuk membersihkan noda pada kain, menghilangkan karat pada keris, membersihkan tangan yang kotor, mencuci botol, menghilangkan bau amis, sebagai bahan kosmetika serta mengkilapkan barang-barang yang terbuat dari kuningan (Anonymous, 2007<sup>a</sup>).

Menurut Abdur Rahman dalam Zakaria *et al.* (2007) di Malaysia, buah *Averrhoa bilimbi* dikenal sebagai manisan atau pemertinggi rasa dalam masakan tradisional Malaysia. Ada juga yang memanfaatkan buah *Averrhoa bilimbi* sebagai obat jerawat, hipertensi dan diabetes. Daun, buah dan bunga juga digunakan untuk obat batuk. Sementara di Indonesia buah belimbing wuluh digunakan sebagai obat demam, batuk, inflamasi (radang), untuk menghentikan perdarahan rektal dan meredakan sembelit.

## **2.2. Ekstraksi Buah Belimbing Wuluh**

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan massa zat aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh pelarut sehingga terjadi larutan zat aktif dalam

pelarut tersebut. Pada umumnya ekstraksi akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan pelarut makin luas. Dengan demikian, makin halus serbuk simplisia, seharusnya makin baik ekstraksinya. Tetapi dalam pelaksanaannya tidak selalu demikian karena ekstraksi masih tergantung juga pada sifat fisik dan kimia simplisia yang bersangkutan (Ahmad, 2006).

Dalam metode ekstraksi bahan alam, dikenal suatu metode maserasi. Maserasi merupakan suatu metode ekstraksi menggunakan lemak panas. Akan tetapi penggunaan lemak panas ini telah digantikan oleh pelarut-pelarut organik yang volatil. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guether, 1987).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat di desak keluar. Pelarut yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Keuntungan cara ekstraksi ini, adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna (Ahmad, 2006).

Shinta (2002) menggunakan metanol untuk mengekstrak senyawa aktif antimikroba dari daun sirih tanah dan Zakaria *et al.* (2007) menggunakan akuades dan kloroform untuk mengekstrak senyawa aktif antibakteri dari daun dan buah

belimbing wuluh. Metode ekstraksi yang digunakan pada kedua penelitian tersebut adalah maserasi.

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut: murah dan mudah diperoleh, stabil fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Ahmad, 2006). Pada penelitian ini digunakan beberapa pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya, yaitu akuades, metanol, etanol, kloroform, dan petroleum eter. Secara fisika, tingkat polaritas ini dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum suatu bahan pelarut. Konstanta dielektrikum ini secara matematis ditunjukkan dalam rumus:

$$D = \frac{e e'}{f r^2} \quad (2.1)$$

dimana D adalah Konstanta Dielektrikum, f gaya tolak menolak dua partikel bermuatan listrik e dan e', sedang r adalah jarak antara partikel e dan e'. Semakin besar Konstanta Dielektrikum suatu bahan pelarut disebut semakin polar (Sudarmdji dkk, 2007). Tabel berikut ini menunjukkan titik didih dan angka konstanta dielektrikum pelarut.

Tabel 2.3. Titik Didih dan Konstanta Dielektrikum Pelarut

Pelarut	Titik Didih <sup>1</sup>	Konstanta Dielektrikum (D) <sup>2</sup>
Akuades	100,0 °C	80,40
Metanol	64,0 °C	33,60
Etanol	78,4 °C	24,30
Kloroform	61,2 °C	4,81
Petroleum eter	70,0 °C	1,90

Sumber : <sup>1</sup>Daintith (1990)

<sup>2</sup>Sudarmdji dkk (2007)

## **2.3. Uji Antibakteri**

### **2.3.1. Antibakteri**

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1998).

Pemakaian antibakteri yang berlebihan menyebabkan mikroba yang semula sensitif terhadap antibiotik menjadi resisten. Oleh karena itu, senyawa antibakteri diperlukan untuk mengatasi bakteri resisten tersebut (Lenny, 2006<sup>a</sup>). Resistensi sel mikroba ialah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antimikroba. Sifat ini dapat merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup. Resistensi dibagi dalam kelompok resistensi genetik, resistensi nongenetik dan resistensi silang. Mekanisme resistensi terhadap antimikroba antara lain : perubahan tempat kerja (target site) obat pada mikroba; mikroba menurunkan permeabilitasnya hingga obat sulit masuk ke dalam sel; inaktivasi obat oleh mikroba; mikroba membentuk jalan pintas untuk menghindari tahap yang dihambat oleh antimikroba; dan meningkatkan produksi enzim yang dihambat oleh antimikroba (Ganiswarna, 2003).

Davis Stout dalam Ardiansyah (2005) mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan antibakteri adalah sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih

berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.

### 2.3.2. Bakteri Uji

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif, selnya berbentuk bola dengan garis tengah 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur. *S. aureus* tidak memiliki kapsul dan spora, serta tidak diketahui adanya stadium istirahat. Dinding selnya mengandung dua komponen utama, yaitu peptidoglikan serta asam tekoat yang berkaitan dengannya. *S. aureus* bersifat anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik. Suhu optimum mencapai 35-40 °C. Bakteri tersebut berasosiasi dengan kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir hewan berdarah panas (Pelczar dan Chan, 1998).

*Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek lurus (kokobasil), dengan ukuran 1,1-1,5  $\mu\text{m}$  x 2,0-6,0  $\mu\text{m}$ . *E. coli* tidak memiliki kapsul dan spora. Bersifat anaerob fakultatif, tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana (Pelczar dan Chan, 1998).

Pada umumnya, bakteri gram positif mudah dimatikan oleh penisilin, gramisidin, atau lebayung gentian berkadar rendah, sedangkan bakteri gram negatif lebih tahan terhadap senyawa-senyawa tersebut di atas, namun cukup peka terhadap streptomisin (Volk dan Wheeler, 1993). Pada penelitian ini digunakan kontrol positif penisilin untuk bakteri *S. aureus* dan kontrol positif streptomisin untuk bakteri *E. coli* (Soetan *et al.*, 2006).

Tabel 2.4. Beberapa Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Ciri	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80 nm) Berlapis tunggal (mono)	Tipis (10-15 nm) Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4 %) Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; jumlahnya lebih dari 50 % berat kering pada beberapa bakteri Asam tekoat	Kandungan lipid tinggi (11-22 %) Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sekitar 10 % berat kering Tidak ada asam tekoat
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan

Sumber: Peleczar dan Chan (1986)

Hasil penelitian Shinta (2004) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1250 mg/mL ekstrak kloroform dari daun sirih tanah memberikan zona hambatan 23 mm untuk *E. coli*. Penelitian Zakaria *et al.* (2007) menunjukkan bahwa ekstrak akuades dari daun belimbing wuluh memberikan zona hambatan sebesar 7 mm dan 8 mm pada konsentrasi 50 dan 100 mg/mL untuk *S. aureus*, sedangkan ekstrak kloroform dari daun belimbing wuluh memberikan zona hambatan sebesar 10 mm, 10-11 mm dan 11 mm pada konsentrasi 25, 50 dan 100 mg/mL secara berturut-turut. Ekstrak akuades dari buah belimbing wuluh memberikan zona hambatan sebesar 8-9 mm dan 10 mm pada konsentrasi 50 dan 100 mg/mL untuk *S. aureus*, sedangkan ekstrak kloroform dari buah belimbing wuluh memberikan zona hambatan sebesar 10 mm pada konsentrasi 100 mg/mL.

### **2.3.3. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri**

Istilah pertumbuhan umum digunakan untuk bakteri dan mikroorganisme lain, biasanya mengacu pada pertambahan jumlah atau massa sel dan bukan perubahan individu organisme. Apabila bakteri diinokulasikan ke dalam suatu medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah yang amat tinggi dalam waktu yang relatif pendek (Peleczar dan Chan, 1968).

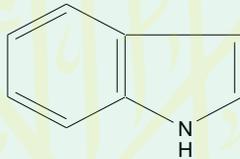
Bakteri berkembang biak dengan jalan membelah diri, 1 (satu) menjadi 2 (dua), 2 (dua) menjadi 4 (empat) dan seterusnya. Interval waktu yang dibutuhkan bakteri membelah diri berbeda antara yang satu dengan yang lainnya. Misalnya: *E. coli* membelah diri setiap 15-29 menit dan *S. aureus* membelah diri setiap 27-30 menit (Entjang, 2003).

### **2.4. Pengertian Senyawa Aktif**

Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, triterpenoid dan lain-lain (Lenny, 2006<sup>a</sup>). Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktifitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006<sup>b</sup>).

### 2.4.1. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang terbesar. Satu-satunya sifat alkaloid yang terpenting adalah kebiasaannya. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang sering kali terdapat dalam cincin heterosiklik. Penggolongan alkaloid dilakukan berdasarkan sistem cincinnya, misalnya piridina, piperidina, indol, isokuinolina, dan tropana. Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai senyawa organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat (Robinson, 1995).

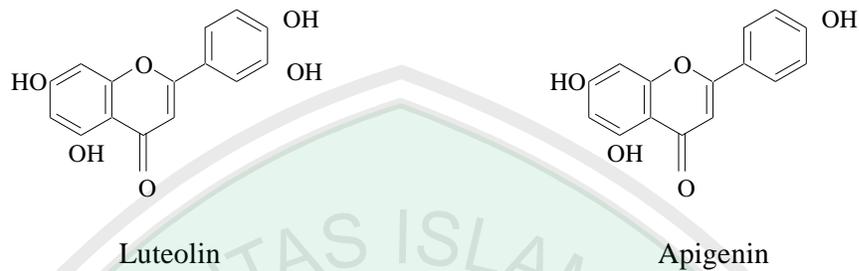


Gambar 2.2. Struktur Alkaloid (Robinson, 1995)

### 2.4.2. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Harborne, 1984). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa  $C_6-C_3-C_6$ . Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus  $C_6$  (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai  $C_3$  (Robinson, 1995). Mian dan Mohamed (2001)

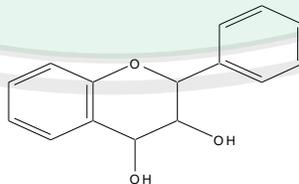
dalam Zakaria *et al.* (2007) memperkirakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam belimbing wuluh adalah tipe luteolin dan apigenin.



Gambar 2.3. Beberapa Senyawa Flavonoid (Robinson, 1995)

#### 2.4.3 Tanin

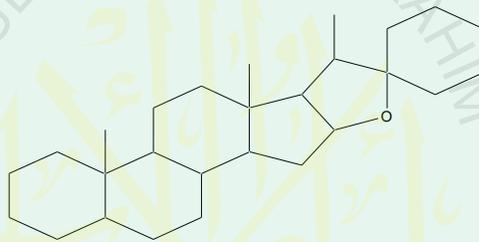
Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis (Robinson, 1995). Tanin terkondensasi terdapat dalam paku-pakuan, gimnospermae dan angiospermae, terutama pada jenis tumbuh-tumbuhan berkayu. Tanin terhidrolisis penyebarannya terbatas pada tumbuhan berkeping dua (Harborne, 1984).



Gambar 2.4. Struktur Tanin (Harborne, 1984)

#### 2.4.4. Saponin

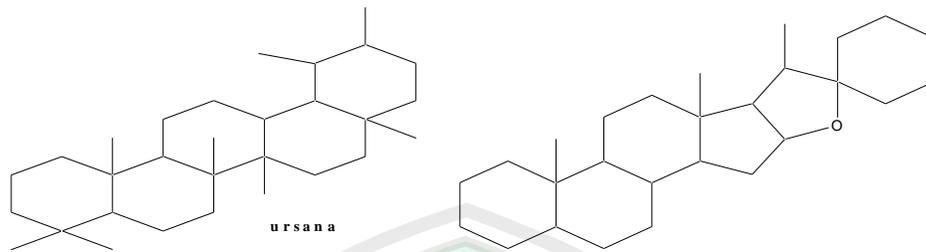
Saponin berasal dari bahasa latin *Sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin merupakan glikosida triterpenoid dan sterol (Robinson, 1995), terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa bila dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis pada sel darah merah (Cheeke, 2004 dalam Faradisa, 2008).



Gambar 2.5. Kerangka Dasar Saponin (Robinson, 1995)

#### 2.4.5. Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yang mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006<sup>b</sup>). Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji, bebas dan sebagai glikosida. Triterpena alkohol monohidroksi dalam tumbuhan tidak dibarengi oleh pigmen, sedangkan triterpenadiol berada bersama-sama dengan karotenoid dan triterpena asam dengan flavonoid (Robinson, 1995).



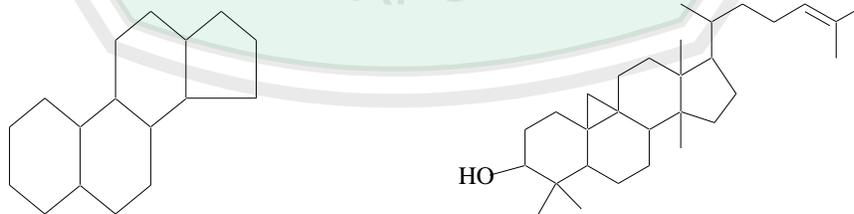
Ursana

Glikosida triterpenoid

Gambar 2.6. Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

#### 2.4.6. Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan empat cincin (Gambar 2.7). Beberapa turunan steroid yang penting ialah alkohol steroid atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid (Daintith, 1990). Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol (Robinson, 1995).



Inti steroid

Sikloartenol

Gambar 2.7. Senyawa Steroid (Daintith, 1990)

## 2.5. Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Pada analisis spektrokimia, spektrum radiasi elektromagnetik digunakan untuk menganalisis spesies kimia dan menelaah interaksinya dengan radiasi elektromagnetik. Dasar analisis spektroskopi adalah interaksi radiasi dengan spesies kimia. Daerah radiasi spektroskopi infra merah atau *infrared spectroscopy* (IR) berkisar pada bilangan gelombang  $12800-10\text{ cm}^{-1}$ , atau panjang gelombang  $0,78-1000\ \mu\text{m}$ . Daerah yang paling banyak digunakan untuk berbagai keperluan praktis adalah  $4000-690\text{ cm}^{-1}$  ( $2,5-1,5\ \mu\text{m}$ ). Daerah ini biasa disebut dengan daerah IR tengah (Khopkar, 1990). Kegunaan yang paling penting dari spektroskopi inframerah adalah untuk identifikasi senyawa organik, karena spektrumnya sangat kompleks dan terdiri dari banyak puncak-puncak. Spektrum inframerah mempunyai sifat fisik dan karakteristik yang khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda dan kemungkinan dua senyawa mempunyai spektrum sama adalah sangat kecil (Hayati, 2007).

Pada dasarnya Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) adalah sama dengan Spektrofotometer IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra merah melewati contoh (Giwangkara, 2007). Spektrofotometer IR dispersi menggunakan prisma (grating) sebagai pengisolasi radiasi, sedangkan spektrofotometer FTIR menggunakan interferometer yang dikontrol secara otomatis dengan komputer. Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif (Hayati, 2007).

Pada sistem optik FTIR digunakan radiasi LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*) yang berfungsi sebagai radiasi yang diinterferensikan dengan radiasi infra merah agar sinyal radiasi infra merah yang diterima oleh detektor secara utuh dan lebih baik. Detektor yang digunakan dalam Spektrofotometer FTIR adalah TGS (*Tetra Glycerine Sulphate*) atau MCT (*Mercury Cadmium Telluride*). Detektor MCT lebih banyak digunakan karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan detektor TGS, yaitu memberikan respon yang lebih baik pada frekuensi modulasi tinggi, lebih sensitif, lebih cepat, tidak dipengaruhi oleh temperatur, sangat selektif terhadap energi vibrasi yang diterima dari radiasi infra merah (Giwangkara, 2007).

Mekanisme untuk menghasilkan spektrum FTIR kunci utamanya adalah interferometer. Sinar dari sumber inframerah dipecah oleh pemecah sinar (beam splitter) menjadi dua bagian yaitu 50 % radiasi direfleksi dan 50 % ditransmisi dengan arah saling tegak lurus. Kemudian kedua sinar tersebut dipantulkan kembali oleh kedua cermin FM (cermin tetap) dan MM (cermin bergerak) dan bertemu kembali di pemecah sinar untuk saling berinteraksi. Sebagian sinar diarahkan ke sampel dan detektor, sedangkan sebagian lagi dikembalikan ke sumber. Gerakan maju mundur cermin mengakibatkan radiasi IR akan menimbulkan perbedaan jarak yang ditempuh menuju cermin yang bergerak dan cermin diam. Perbedaan jarak tempuh radiasi adalah  $2(M-F)$  dan disebut retardasi. Hubungan antara intensitas radiasi IR yang keluar dari detektor terhadap retardasi disebut interferogram. Interferogram tersebut diubah oleh komputer menghasilkan

spektrum (Hayati, 2007). Secara umum lebih baik digunakan bagan korelasi untuk mengidentifikasi gugus fungsi dari spektrum FTIR seperti pada tabel berikut:

Tabel 2.5. Daftar Korelasi Gugus Fungsi FTIR

Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Jenis Vibrasi
4000-3200	Uluran O-H alkohol, asam karboksilat dan fenol
3310-2800	Uluran C-H alkuna, alkena, aromatik, alkana dan aldehid
1870-1550	Uluran C=O ester, keton dan asam karboksilat
1600-1450	Uluran C=C aromatik
1310-1020	Uluran C-O-C eter (aromatik atau alifatik)

Sumber: Socrates (1994)

Secara keseluruhan, analisis menggunakan Spektrofotometer FTIR memiliki dua kelebihan utama dibandingkan metoda konvensional lainnya, yaitu (Giwangkara, 2007):

1. Dapat digunakan pada semua frekuensi dari sumber cahaya secara simultan sehingga analisis dapat dilakukan lebih cepat daripada menggunakan cara sekuensial atau scanning.
2. Sensitifitas dari metoda Spektrofotometri FTIR lebih besar daripada cara dispersi, sebab radiasi yang masuk ke sistem detektor lebih banyak karena tanpa harus melalui celah (slitless).

## 2.6. Pemanfaatan Tanaman sebagai Obat dalam Perspektif Islam

Manusia adalah makhluk yang memiliki banyak kelemahan dan harus selalu terus-menerus berusaha untuk mengatasi kelemahan tersebut. Gambaran paling jelas tentang kelemahan tersebut adalah adanya penyakit yang diderita

manusia. Keberadaan berbagai penyakit termasuk *sunnah kauniyyah* yang diciptakan oleh Allah SWT. Penyakit-penyakit itu merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan Allah SWT (Mubarok, 2007).

Sesungguhnya kesehatan merupakan salah satu nikmat besar yang Allah berikan kepada manusia, akan tetapi nikmat tersebut kadang kurang disyukuri. Pada umumnya manusia, termasuk kita menyalahgunakan kesehatan. Ketika penyakit mulai menghampiri kita, maka kita berkeluh kesah dan baru sadar betapa mahalnya harga sebuah kesehatan. Suatu nasihat yang amat bijak mengatakan bahwa “mencegah datangnya penyakit memang lebih baik dari pada mengobatinya.” Apabila kehendak Allah menentukan kita untuk sakit, maka kita wajib untuk berikhtiyar mencari kesembuhan. Kita wajib memperhatikan rambu-rambu syariat dalam berikhtiyar mencari kesembuhan (Kustoro, 2007).

Allah SWT menurunkan penyakit dan menurunkan obat bersama penyakit itu. Obat itupun menjadi rahmat dan keutamaan dari-Nya untuk hamba-hambanya, baik yang mukmin maupun yang kafir (Mubarok, 2007). Rasulullah SAW bersabda: “*Wahai hamba-hamba Allah berobatlah kalian karena tidaklah Allah Azza wa jalla menimpakan suatu macam penyakit kecuali telah Dia ciptakan obat untuknya, kecuali satu macam penyakit.*” Mereka bertanya: “*Apa penyakit itu?*” jawab Beliau: “*Penyakit tua (pikun)*”. (HR. Ahmad, Ibnu Majah, Abu Daud, dan At- Tirmizi) (Kustoro, 2007).

Al-Qur`anul Karim dan As-Sunnah yang shahih sarat dengan beragam penyembuhan dan obat yang bermanfaat dengan izin Allah SWT. Sehingga mestinya kita tidak terlebih dahulu berpaling dan meninggalkannya untuk beralih

kepada pengobatan kimiawi yang ada di masa sekarang ini. Karena itulah Al-Imam Ibnu Qayyim Al-Jauziyyah berkata:

*“Sungguh para tabib telah sepakat bahwa ketika memungkinkan pengobatan dengan bahan makanan maka jangan beralih kepada obat-obatan kimiawi. Ketika memungkinkan mengkonsumsi obat yang sederhana, maka jangan beralih memakai obat yang kompleks. Mereka mengatakan: ‘Setiap penyakit yang bisa ditolak dengan makanan-makanan tertentu dan pencegahan, janganlah mencoba menolaknya dengan obat-obatan.’” Ibnu Qayyim juga berkata: “Berpalingnya manusia dari cara pengobatan nabi seperti halnya berpalingnya mereka dari pengobatan dengan Al-Qur`an, yang merupakan obat bermanfaat.” (Mubarak, 2007).*

*Ath-Thibbun Nabawi* (pengobatan cara nabi) adalah metode pengobatan yang digunakan Nabi SAW saat mengobati sakit yang dideritanya, atau beliau perintahkan kepada keluarga serta para sahabat yang tengah sakit untuk melakukannya. Al Quran, hadits shahih serta atsar para sahabat yang diriwayatkan melalui jalan yang dapat dipertanggungjawabkan menurut kaidah-kaidah ilmu hadits merupakan sumber yang dijadikan rujukan metode pengobatan tersebut (Kustoro, 2007).

Al-Qur`an telah menyebutkan sejumlah buah-buahan yang oleh ilmu pengetahuan modern ditegaskan memiliki khasiat untuk mencegah beberapa jenis penyakit. Allah memerintahkan manusia supaya memperhatikan keberagaman dan keindahan ciptaan-Nya disertai seruan agar merenungkan ciptaan-ciptaan-Nya yang amat menakjubkan. Allah berfirman:

مِّنْهُ فَأَخْرَجْنَا شَيْءٌ مِّمَّا تَبَاتَ بِهِ، فَأَخْرَجْنَا مَاءً السَّمَاءِ مِنْ أَنْزَلِ الَّذِي وَهُوَ  
مِّنْ وَجْنَتِ دَانِيَّةٍ قَنَوَانَ طَلَعَهَا مِنَ النَّخْلِ وَمِنْ مُتْرَاكِبًا حَبًّا مِنْهُ تُخْرِجُ خَضِرًا

وَيَنْعِهِمْ إِثْمَرَهُ إِذَا ثَمَرَ بِهَا إِلَى أَنْظُرُوا مُتَشَبِهٍ وَغَيْرِ مُشْتَبِهٍ وَالزَّيْتُونَ أَعْنَابٍ  
يُؤْمِنُونَ لِقَوْمٍ لَّا يَأْتِيهِمْ فِي إِنْ

"Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman". (QS. Al-An'am: 99).

Ayat di atas mengingatkan kita tentang adanya tanda-tanda kekuasaan Allah dalam dunia tumbuh-tumbuhan yang memang penuh dengan tanda-tanda yang menunjukkan keagungan dan keperkasaan-Nya. Semua jenis tumbuhan makan dan tumbuh dari air, sinar, karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, fosforus, sulfur, kalium, kalsium, magnesium dan besi. Meskipun makanannya sama, tanah telah menumbuhkan apel yang manis, *colocynth* yang pahit, kapas yang lembut, kaktus yang berduri, gandum, *barley*, jeruk, kurma, anggur, buah ara, zaitun dan delima. Demikianlah, dalam tanah yang sama, unsur makanan yang sama dan air yang sama, biji- biji yang sangat kecil itu menumbuhkan ribuan jenis tumbuhan dan buah-buahan dengan aneka ragam bentuk, warna, bau dan rasa (Pasya, 2004).

Jauh sebelum Islam datang bahkan 5000 tahun sebelum Masehi pun praktik pengobatan sudah ada. Dan bukan hal yang mustahil pada zaman Rasulullah sudah tersebar banyak cara pengobatan, termasuk di dalamnya terapi herba dan bekam. Terapi herba ialah terapi dengan tumbuh-tumbuhan yang mengandung

obat hal ini diambil dari sabdanya *Bi Syarbatī 'Asalīn* (minum madu). Satu sendok madu yang kita minum mengandung beberapa ribu sari herba, karena sekurang-kurangnya seekor lebah hinggap di 144 macam tumbuh-tumbuhan. Kemudian oleh para tabib terdahulu diurailah herba-herba ini menjadi lebih spesifik untuk proses dan dosis yang tepat dalam mengobati penyakit. Kelebihan herba di antaranya ialah probiotik (tidak antibiotik), meningkatkan imunitas tubuh, tidak ada efek samping, mengandung nutrisi, makanan, vitamin dan mineral organik, mengobati ke sumber (penyebab) penyakit dan tidak hanya mengobati satu macam penyakit (Anonymous, 2007<sup>b</sup>).

Beberapa pengobatan secara fisik yang telah digunakan pada zaman Rasulullah SAW dapat dilihat dari berbagai contoh berikut:

#### **1. Habbatussauda (Jintan Hitam)**

Habbatussauda ialah suatu jenis tumbuhan yang tumbuh di Afrika Utara, Asia dan Eropa Selatan. Pada zaman Yunani kuno, raja-raja Yunani dikubur bersama dengan biji jintan hitam dengan tujuan untuk mengawetkan mayat. Semenjak zaman Rasulullah, Umat Islam telah menggunakan jintan hitam sebagai obat segala macam penyakit (Kustoro, 2007).

Khalid bin Sa'ad menuturkan: "Kami berpergian, dan bersama kami ada Ghalib bin Abjar. Di tengah perjalanan dia sakit. Sesampainya di Madinah sakitnya belum juga sembuh. Ibnu Ubay bin 'Atiq menengoknya, lalu dia berkata kepada kami, "Cobalah kalian dengan biji jintan hitam ini. Ambilah lima atau tujuh, lalu tumbuklah sampai halus, kemudian teteskan zat (minyak zaitun) dari arah sini dan dari arah sini, karena sesungguhnya 'Aisyah RA telah

menyampaikan hadits kepadaku beliau telah mendengar Rasulullah SAW bersabda: *“Sesungguhnya jintan hitam ini adalah obat penyembuh dari segala macam penyakit, kecuali kematian”*. (HR. Bukhari) (Kustoro, 2007).

## **2. Minyak Zaitun**

Zaitun merupakan sumber makanan sehat yang enak rasanya. Minyaknya mengandung kurang lebih 30 % asam linoleat yang sangat bermanfaat bagi ibu-ibu menyusui, penderita diabetes dan arterioclerosis (penebalan saluran urat darah). Berbeda dengan mentega padat, minyak zaitun tidak meninggikan tingkat kolesterol di dalam darah, tetapi tetap mengendalikannya (Yahya, 2006). Allah berfirman:

*“... pohon yang diberkati, yaitu pohon zaitun....”* (QS. An Nuur: 35)

Rasullallah SAW juga bersabda: *“Makanlah zaitun dan pergunakanlah ia sebagai minyak, karena sesungguhnya ia berasal dari pohon yang diberkati.”* [HR. At-Tirmidzi, Ahmad dan Ad- Darimi) (Kustoro, 2007).

## **3. Hijam (Bekam) dan Madu**

Hijamah ialah metode pengobatan dengan cara mengeluarkan darah kotor pada bagian tubuh tertentu sampai tengkuk atau yang lainnya (Kustoro, 2007). Para ahli sepakat bahwa pengobatan yang baik ialah pengobatan luar dalam. Terapi herba (termasuk minum madu) dan bekam merupakan kekuatan sinergis bila dipadukan, bekam sebagai terapi luar, dan herba sebagai terapi dalam yang tidak bisa disembuhkan dengan bekam (Anonymous, 2007<sup>b</sup>).

Dari Ibnu ‘Abbas RA, Nabi SAW bersabda: *“Penyembuhan itu ada pada tiga cara: minum madu, mengeluarkan darah dengan alat bekam dan kayy*

*(memanaskan besi dengan api lalu menempelkannya pada bagian tubuh yang sakit) akan tetapi aku melarang umatku dari kayy.” (HR. Bukhari) (Kustoro, 2007).*

Madu merupakan minuman paling manis dan bermutu tinggi karena masih dalam kondisi alami. Ilmu pengetahuan telah menetapkan madu lebah terbentuk dari sembilan belas bahan vital yang bermanfaat bagi tubuh manusia, antara lain: protein, karbohidrat, vitamin dan mineral. Madu lebah telah menjadi makanan paling penting yang dipakai dalam proses terapi alami serta diketahui sebagai terapi manjur bagi banyak penyakit (Pasya, 2004).

Berkaitan dengan kesembuhan suatu penyakit, seorang hamba tidak boleh bersandar semata dengan pengobatan tertentu. Dan tidak boleh meyakini bahwa obatlah yang menyembuhkan sakitnya. Namun seharusnya ia bersandar dan bergantung kepada Dzat yang memberikan penyakit dan menurunkan obatnya sekaligus, yakni Allah SWT. Seorang hamba hendaknya selalu bersandar kepadanya dalam segala keadaannya (Anonymous, 2007<sup>b</sup>).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei 2008 di Laboratorium Kimia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang dan Laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

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

##### **3.2.1. Alat Penelitian**

Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi dan identifikasi dalam penelitian ini adalah pisau, oven, neraca analitik (Mettler AE 25), seperangkat alat gelas, rotary evaporator, dan seperangkat alat FTIR merek Shimadzu. Alat yang digunakan untuk uji antibakteri adalah cawan petri, tabung reaksi, kertas, kapas, botol media, jarum ose, inkubator, pinset, autoklaf, bunsen, pipet mikro dan penggaris.

##### **3.2.2. Bahan Penelitian**

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah belimbing wuluh kering. Bahan kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah p.a, yaitu: akuades, metanol 80 %, etanol 80 %, kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ), dan petroleum eter. Sedangkan bahan kimia lainnya antara lain: asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), reagen

dragendorff, serbuk Mg (magnesium), asam klorida (HCl), besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>), asam asetat anhidrat dan kertas saring.

Uji antibakteri digunakan bahan-bahan sebagai berikut: nutrien agar, alkohol 90 %, kertas wathman, akuades steril, wrap serta biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### 3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan rancang bangun penelitian eksperimental laboratorik. Proses ekstraksi dilakukan dengan 5 jenis pelarut yang memiliki kepolaran berbeda yaitu akuades, metanol, etanol, kloroform dan petroleum eter (dengan dua kali ulangan). Masing-masing ekstrak diuji aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 100 mg/mL untuk memperoleh ekstrak terbaik (optimum). Uji efektifitas antibakteri dari ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram dengan analogi penentuan diameter zona hambatan.

Pengujian antibakteri dari ekstrak terbaik disusun dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 8 perlakuan konsentrasi. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali, sehingga ada 24 satuan percobaan. Perlakuan yang digunakan:

$$K_1 = 100 \text{ mg/mL}$$

$$K_5 = 300 \text{ mg/mL}$$

$$K_2 = 150 \text{ mg/mL}$$

$$K_6 = 350 \text{ mg/mL}$$

$$K_3 = 200 \text{ mg/mL}$$

$$K_7 = 400 \text{ mg/mL}$$

$$K_4 = 250 \text{ mg/mL}$$

$$K_8 = 450 \text{ mg/mL}$$

### **3.4. Tahapan Penelitian**

1. Preparasi sampel
2. Ekstraksi buah belimbing wuluh
3. Uji golongan senyawa aktif
4. Uji antibakteri
5. Identifikasi gugus fungsi senyawa aktif dengan FTIR

### **3.5. Cara Kerja**

#### **3.5.1. Persiapan Sampel**

Sebanyak 11 kg buah belimbing wuluh dicuci bersih, diiris tipis dan dikeringkan dalam oven pada suhu 37-40 °C selama 4-5 jam kemudian dijemur sampai diperoleh berat konstan (kering). Buah belimbing wuluh kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk, hasil yang diperoleh digunakan sebagai sampel penelitian.

#### **3.5.2. Ekstraksi Buah Belimbing Wuluh dengan Metode Maserasi**

Serbuk buah belimbing wuluh masing-masing sebanyak 50 gram direndam dengan 200 mL akuades, metanol, etanol, kloroform, dan petroleum eter selama 3 x 24 jam dengan beberapa kali pengadukan. Kemudian larutan ekstrak buah belimbing wuluh disaring. Filtrat ekstrak buah belimbing wuluh dipekatkan dengan rotary evaporator dan ditimbang. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji golongan senyawa aktif dan uji antibakteri.

### **3.5.3. Uji Efektifitas Antibakteri**

#### **3.5.3.1. Sterilisasi Alat**

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara semua alat dibungkus menggunakan kertas dan disterilkan dalam autoklaf pada 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inci) selama 15 menit. Alat yang tidak tahan terhadap panas tinggi disterilkan dengan alkohol 90 %.

#### **3.5.3.2. Penyiapan Media**

Pembuatan media dilakukan dengan cara 1 g nutrisi agar dilarutkan dalam 50 ml akuades. Suspensi yang dihasilkan dipanaskan sampai mendidih, kemudian dimasukkan dalam beberapa tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 mL dan ditutup dengan kapas. Proses ini dilakukan di dekat nyala api. Tabung-tabung tersebut kemudian disterilkan dalam autoklaf pada 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit kemudian diletakkan dalam posisi miring selama 24 jam pada suhu ruang (Volk dan Wheeler, 1993).

#### **3.5.3.3. Peremajaan Biakan Murni**

Biakan murni bakteri diremajakan pada media padat agar miring dengan cara menggosokkan jarum ose yang mengandung bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* secara aseptis yaitu dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggosokkan jarum ose. Kemudian tabung reaksi ditutup kembali dengan kapas dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator.

#### **3.5.3.4. Pembuatan Biakan Aktif**

Satu ose hasil peremajaan biakan murni bakteri dibiakkan dalam 10 mL akuades steril dan dihomogenkan. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif .

#### **3.5.3.5. Uji Antibakteri**

Media padat (tahap 3.5.3.2) yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$ , dan dituang dalam cawan petri steril. Kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan biakan aktif bakteri dan dihomogenkan kemudian dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram (diameter 5 mm) diresapkan dalam ekstrak dan kontrol. Proses peresapan dilakukan dengan cara meneteskan 20  $\mu\text{L}$  kontrol positif (penisilin dan streptomisin), kontrol negatif (pelarut) dan ekstrak (Zakaria *et al.*, 2007). Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Media bakteri yang sudah dipasang bahan antibakteri diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam. Pembacaan awal dapat dilakukan setelah 6-8 jam. Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan penggaris untuk menentukan efektifitas antibakteri (Volk dan Wheeler, 1993). Zona hambatan diukur dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (cakram + zona hambatan) dengan diameter cakram.

Uji antibakteri dilakukan dalam 2 tahap. Tahap 1 bertujuan untuk mengetahui ekstrak terbaik (konsentrasi ekstrak 100 mg/mL). Tahap 2 dilakukan apabila telah diketahui ekstrak terbaik, ekstrak tersebut diuji untuk mengetahui efektifitas senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh (konsentrasi ekstrak

100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 dan 450 mg/mL). Pada penelitian ini kontrol positif penisilin (konsentrasi 25 mg/mL) digunakan untuk bakteri *S. aureus* dan kontrol positif streptomisin (konsentrasi 6,25 mg/mL) untuk bakteri *E. coli* (Soetan *et al.*, 2006).

### **3.5.4. Pengujian Golongan Senyawa Aktif**

#### **3.5.4.1. Uji Alkaloid**

Setengah gram ekstrak sampel dari hasil ekstraksi ditambahkan 0,5 mL HCl 1% kemudian ditambahkan 1-2 tetes reagen dragendorf. Apabila hasil pengujian menghasilkan warna jingga, maka ekstrak positif mengandung alkaloid.

#### **3.5.4.2. Uji Flavonoid**

Setengah gram ekstrak sampel dari hasil ekstraksi ditambahkan dengan 1-2 mL air panas dan sedikit serbuk Mg. Kemudian ditambahkan 4-5 tetes HCl 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama kemudian dikocok. Apabila timbul warna merah, kuning atau jingga, maka ekstrak positif mengandung flavonoid.

#### **3.5.4.3. Uji Tanin**

Setengah gram ekstrak sampel dari hasil ekstraksi dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1-2 mL air dan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1 %. Apabila larutan menghasilkan warna hijau kebiruan, maka ekstrak positif mengandung tanin.

#### **3.5.4.4. Uji Saponin**

Setengah gram ekstrak sampel dari hasil ekstraksi ditambahkan 0,5 mL air panas kemudian dikocok selama 1 menit. Apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, apabila busa stabil selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin.

#### **3.5.4.5. Uji Triterpenoid dan Steroid**

Setengah gram ekstrak sampel dari hasil ekstraksi ditambahkan 0,5 mL  $\text{CHCl}_3$  dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Kemudian ditetesi dengan 1-2 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat melalui dinding tabung. Apabila terbentuk warna ungu-merah, maka ekstrak positif mengandung triterpenoid. Sedangkan apabila terbentuk warna hijau atau biru, maka ekstrak positif mengandung steroid.

#### **3.5.5. Identifikasi Gugus Fungsi Senyawa Aktif dengan FTIR**

Ekstrak sampel dari hasil ekstraksi yang memiliki efektifitas antibakteri terbaik kemudian diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR merek Shimadzu, dengan kondisi alat sebagai berikut:

*Apodization* : Happ-Genzel

*No. of Scans* : 20

*Resolution* : 2.0

Pelet KBr (Kalium bromida) dibuat dengan cara menimbang 2 g padatan KBr yang bebas air kemudian padatan tersebut digerus sampai halus dan dipres pada tekanan 2 torr. Selanjutnya ekstrak sampel ditetaskan pada permukaan pelet

dengan menggunakan pipet kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer FTIR dengan rentang bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.6. Analisis Data**

Data efektifitas antibakteri dianalisis ragam melalui uji *F* untuk menguji adanya pengaruh atau perbedaan antar perlakuan variasi konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri. Apabila terdapat adanya pengaruh atau perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat signifikansi 1 % untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata di antara perlakuan yang lain.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Preparasi Sampel dan Pengeringan Buah Belimbing Wuluh

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang telah dikeringkan. Pengeringan dilakukan terkait dengan sifat fisik dari buah belimbing wuluh yang mudah busuk, dengan pengeringan diharapkan buah belimbing wuluh akan lebih awet dan tahan terhadap mikroba. Proses pengeringan terhadap buah belimbing wuluh dilakukan dengan menimbang sebanyak 11 kg buah segar dan dicuci dengan air bersih. Buah belimbing yang telah bersih diiris memanjang dengan ketebalan  $\pm 3$  cm, kemudian dioven selama 4-5 jam pada suhu 37-40 °C dan dijemur sampai benar-benar kering. Buah belimbing yang telah kering dihaluskan dan diperoleh 600 g sampel berupa serbuk dengan rendemen 5,45 % (Lampiran 7). Perhitungan rendemen disajikan pada Lampiran 3.

Selama proses pengeringan terdapat perubahan warna, tekstur dan berat. Buah belimbing wuluh segar berwarna hijau dan masih segar atau keras, setelah dioven berwarna kuning kecoklatan dan agak lunak, sedangkan setelah dijemur berwarna coklat dan kaku. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh terjadinya foto-oksidasi pada buah belimbing wuluh, sedangkan perubahan tekstur dan berat disebabkan buah belimbing wuluh kehilangan beberapa persen kandungan airnya.

## 4.2. Metode Ekstraksi dengan Variasi Pelarut

Ekstraksi merupakan peristiwa pemindahan massa senyawa aktif yang semula berada dalam sel ditarik oleh pelarut, sehingga terjadi larutan senyawa aktif dalam pelarut tersebut (Ahmad, 2006). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Metode maserasi dipilih karena metode ini murah dan mudah dilakukan, selain itu dikhawatirkan senyawa yang terkandung pada buah belimbing wuluh merupakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga metode maserasi dinilai lebih sesuai untuk digunakan.

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan tingkat kepolaran dengan tujuan untuk memperoleh ekstrak dalam jumlah yang besar, senyawa aktif pada buah belimbing wuluh belum diketahui bersifat polar atau non polar. Pelarut terpilih itu adalah akuades, metanol, etanol, kloroform dan petroleum eter. Akuades, metanol dan etanol mewakili pelarut polar, sedangkan kloroform dan petroleum eter mewakili pelarut nonpolar, hal ini didukung oleh nilai tetapan dielektrikum pada Tabel 2.3.

Sampel ditimbang masing-masing 50 g kemudian direndam dalam 200 mL pelarut selama 3 x 24 jam karena proses ekstraksi akan berlangsung optimal dengan tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan sampel. Selama proses perendaman dilakukan beberapa kali pengocokan untuk menyempurnakan kontak antara pelarut dan sampel. Larutan kemudian disaring dan diperoleh filtrat dari berbagai pelarut dengan warna yang berbeda (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Warna Filtrat dari Berbagai Pelarut

Pelarut	Warna filtrat
Akuades	Coklat tua
Metanol	Coklat tua
Etanol	Coklat tua
Kloroform	Coklat muda
Petroleum eter	Kuning kehijauan

Filtrat hasil penyaringan dipekatkan dengan *rotary evaporator*, sehingga pelarut dapat diperoleh kembali dan dapat digunakan kembali. Setelah dilakukan pemekatan diperoleh ekstrak pekat yang berbau seperti jamu dari berbagai pelarut dengan warna dan tekstur yang berbeda (Tabel 4.2).

Tabel 4.2. Warna dan Tekstur Ekstrak Pekat dari Berbagai Pelarut

Pelarut	Warna ekstrak pekat	Tekstur ekstrak pekat
Akuades	Coklat tua	Gel
Metanol	Coklat tua	Cairan kental
Etanol	Coklat tua	Cairan kental
Kloroform	Coklat muda	Cairan agak kental
Petroleum eter	Hijau kecoklatan	Cairan agak kental

Perbedaan warna filtrat, warna dan tekstur ekstrak pekat dari berbagai pelarut (Lampiran 7) diduga karena sebagian besar senyawa pada buah belimbing wuluh cenderung bersifat polar seperti flavonoid, sehingga lebih banyak terekstrak dalam pelarut akuades, metanol dan etanol dibandingkan pelarut kloroform dan petroleum eter. Berat ekstrak pekat dari berbagai pelarut dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Pada Tabel 4.3 dapat dilihat bahwa pelarut akuades menghasilkan ekstrak pekat terbesar diikuti oleh etanol, metanol, kloroform dan terakhir petroleum eter.

Berat ekstrak pekat yang dihasilkan oleh pelarut polar lebih besar daripada pelarut nonpolar, sehingga diduga bahwa senyawa yang terdapat pada buah belimbing wuluh cenderung bersifat polar seperti flavonoid. Hal ini didukung oleh warna filtrat (Tabel 4.1), warna dan tekstur ekstrak pekat (Tabel 4.2) serta prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa polar cenderung larut dalam pelarut polar dan senyawa nonpolar cenderung larut dalam pelarut nonpolar. Berdasarkan hasil ekstraksi disimpulkan bahwa pelarut yang direkomendasikan untuk proses ekstraksi buah belimbing wuluh adalah pelarut yang bersifat polar yaitu akuades, metanol dan etanol.

Tabel 4.3. Berat Ekstrak Pekat dari Berbagai Pelarut (g)

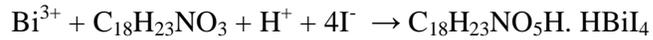
Pelarut	Ulangan		Rata-rata (g)
	1	2	
Akuades	14,52	15,79	15,16
Metanol	11,79	11,89	11,84
Etanol	12,66	11,34	12,00
Kloroform	1,33	1,20	1,27
Petroleum eter	0,81	1,21	1,01

#### 4.3. Hasil Uji Golongan Senyawa Aktif

Uji golongan senyawa aktif ini merupakan uji kualitatif kandungan senyawa pada ekstrak buah belimbing wuluh, sehingga dapat diketahui senyawa yang terdapat di dalamnya. Biasanya uji golongan senyawa aktif dilakukan dalam tabung dengan jumlah sampel yang relatif sedikit.

Bukti kualitatif untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan pereaksi dragendorf (Kalium tetraiodobismutat). Alkaloid

akan membentuk warna jingga akibat reaksi dengan HCl dan reagen dragendorff (Vogel, 1990 ).

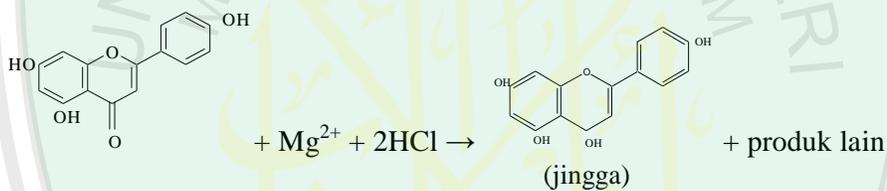


Alkaloid

Alkaloid tetraiodobismutat  
(jingga)

Ekstrak buah belimbing wuluh yang mengandung golongan senyawa alkaloid dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 7.

Reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga pada flavonoid (Robinson, 1995).



Ekstrak buah belimbing wuluh yang mengandung golongan senyawa flavonoid dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 7.

Seperti senyawa fenol lainnya, dengan besi (III) klorida tanin menghasilkan warna hijau kebiruan (Robinson, 1995).



(hijau kebiruan)

Ekstrak buah belimbing wuluh yang mengandung golongan senyawa tanin dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 7.

Busa yang ditimbulkan saponin karena adanya kombinasi struktur senyawa penyusunnya yaitu rantai sapogenin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air (Oleszek, 2002 dalam Faradisa, 2008). Ekstrak buah belimbing wuluh yang mengandung golongan senyawa saponin dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 7.

Senyawa triterpenoid dan steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna. Triterpena alkohol memberikan reaksi ungu-merah jika senyawa ini dicampur dengan asam asetat anhidrat dan setetes asam sulfat pekat, sedangkan steroid memberikan reaksi warna hijau atau biru dengan pencampuran tersebut (Robinson, 1995). Ekstrak buah belimbing wuluh yang mengandung golongan senyawa triterpenoid dan steroid dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 7.

Tabel 4.4. Hasil Uji Golongan Senyawa Aktif

Senyawa aktif	Akuades	Metanol	Etanol	Kloroform	P. eter
Alkaloid	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	++	++	++	-
Tanin	-	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	-	-
Triterpen	++	+	+	-	-
Steroid	-	-	-	-	+

Keterangan : tanda ++: terkandung senyawa lebih banyak/ warna pekat

tanda + : terkandung senyawa/ warna muda

tanda - : tidak terkandung senyawa/ tidak terbentuk warna

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa pada ekstrak akuades, metanol dan etanol mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid, ekstrak kloroform hanya mengandung senyawa flavonoid dan ekstrak petroleum eter hanya mengandung

senyawa steroid. Senyawa flavonoid pada ekstrak metanol, etanol dan kloroform lebih dominan dibandingkan ekstrak akuades, hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya warna jingga yang lebih muda pada ekstrak akuades dibandingkan ekstrak metanol, etanol dan kloroform. Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar (Robinson, 1995), sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar.

Terbentuknya warna ungu-merah pada ekstrak akuades lebih tua dibandingkan ekstrak metanol dan etanol, artinya senyawa triterpenoid pada ekstrak akuades lebih dominan dibandingkan ekstrak metanol dan etanol. Hal ini dikarenakan beberapa senyawa triterpenoid bersifat polar sehingga dapat terekstrak oleh pelarut polar.

Senyawa steroid cenderung bersifat nonpolar sehingga dapat terekstrak oleh pelarut petroleum eter, hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau pada ekstrak petroleum eter. Hasil di atas (Tabel 4.4) menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif pada ekstrak polar lebih banyak dari pada ekstrak nonpolar, maka pelarut yang sesuai digunakan untuk proses ekstraksi senyawa aktif pada buah belimbing wuluh adalah pelarut polar (akuades, metanol dan etanol). Hasil uji golongan senyawa aktif ini akan didukung oleh identifikasi gugus fungsi dengan menggunakan FTIR.

#### 4.4. Pemilihan Ekstrak Terbaik Melalui Uji Antibakteri

Pengujian efektifitas antibakteri ekstrak buah belimbing wuluh dilakukan terhadap bakteri *S. aureus* (gram positif) dan *E. coli* (gram negatif) secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram, adanya zona bening di sekitar cakram menunjukkan aktivitas antibakteri. Diameter zona bening di sekitar cakram yang berisi ekstrak diukur dan dibandingkan dengan diameter zona bening di sekitar cakram yang berisi kontrol positif (penisilin dan streptomisin) dan kontrol negatif (akuades, metanol, etanol, kloroform dan petroleum eter).

Apabila diameter zona bening ekstrak lebih besar dibandingkan diameter zona bening kontrol positif, maka ekstrak sangat efektif sebagai antibakteri. Namun apabila zona bening ekstrak lebih kecil dibandingkan diameter zona bening kontrol positif, maka ekstrak masih kurang efektif sebagai antibakteri, sehingga dimungkinkan dengan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi ekstrak akan seefektif kontrol positif. Sedangkan penggunaan kontrol negatif bertujuan untuk memastikan bahwa diameter zona hambat ekstrak yang dihasilkan bukan pengaruh dari pelarut, tetapi murni dari senyawa aktif dalam ekstrak tersebut.

Ekstrak yang diperoleh dari berbagai pelarut digunakan untuk uji efektifitas antibakteri dengan tujuan untuk memilih ekstrak yang memiliki efektifitas antibakteri tertinggi. Merujuk penelitian Zakaria *et al.* (2007) konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh yang digunakan dalam pengujian ini adalah 100 mg/mL. Hasil uji efektifitas antibakteri pada buah belimbing wuluh dari berbagai ekstrak disajikan dalam Tabel 4.5 dan Lampiran 7.

Kemampuan ekstrak kasar buah belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri tergantung pada konsentrasi dan jenis senyawa aktif yang terlarut dalam ekstrak. Ekstrak akuades, metanol, etanol dan kloroform mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yang ditunjukkan oleh diameter zona hambat (Tabel 4.3) masing-masing sebesar 4; 2,33; 6,67 dan 1,33 mm. Ekstrak akuades, metanol dan etanol menunjukkan diameter zona hambat untuk bakteri *E. coli* sebesar 5; 4 dan 6 mm. Diameter zona hambat yang diberikan oleh ekstrak diperkirakan murni dari senyawa aktif ekstrak karena kontrol negatif pelarut tidak memberika zona hambat pada kedua bakteri (Tabel 4.5).

Tabel 4.5. Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Berbagai Pelarut

Cakram	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Ekstrak akuades	4,00	5,00
Ekstrak metanol	2,33	4,00
Ekstrak etanol	6,67	6,00
Ekstrak kloroform	1,33	-
Ekstrak petroleum eter	-	-
Akuades	-	-
Metanol	-	-
Etanol	-	-
Kloroform	-	-
Petroleum eter	-	-
Penisilin	5,67	-
Streptomisin	-	17,00

Apabila hasil di atas (Tabel 4.5) dikaitkan dengan ketentuan kekuatan antibakteri yang dikemukakan oleh David Stout, maka kekuatan antibakteri yang terkandung dalam ekstrak akuades, metanol dan kloroform masuk dalam kategori lemah (masuk dalam kisaran  $\leq 5$  mm). Hal ini diduga karena kandungan senyawa

yang berpotensi sebagai antibakteri pada ketiga ekstrak tersebut hanya sedikit, sehingga kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri masih sangat lemah. Ekstrak etanol masuk dalam kategori sedang (masuk dalam kisaran 5-10 mm), hal ini diduga karena kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri pada ekstrak tersebut sudah cukup banyak, sehingga cukup mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Ekstrak yang memiliki efektifitas antibakteri tertinggi dipilih untuk diuji efektifitas antibakterinya kembali dengan variasi konsentrasi ekstrak. Berdasarkan Tabel 4.5 dan kekuatan antibakteri, maka ekstrak yang dipilih untuk uji efektifitas antibakteri adalah ekstrak etanol. Hal ini didukung oleh berat ekstrak pekat (Tabel 4.3) dan hasil uji golongan senyawa aktif (Tabel 4.4).

#### **4.5. Efektifitas Senyawa Aktif Antibakteri**

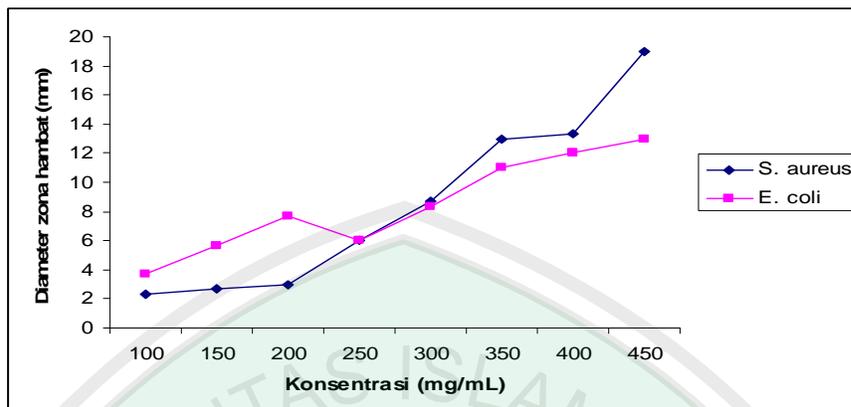
Pada uji efektifitas senyawa aktif antibakteri ini ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol. Berdasarkan hasil uji golongan senyawa aktif di atas (Tabel 4.4) diketahui bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa aktif flavonoid dan triterpenoid. Flavonoid dapat berefek antibakteri melalui kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein yang dapat larut serta dengan dinding sel bakteri (Robinson, 1995 dalam Ardananurdin dkk, 2004). Triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas ekstrak kasar buah belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. Coli*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 dan 450 mg/mL sebagai rentang konsentrasi yang dianggap mewakili. Hasil uji efektifitas antibakteri disajikan pada Tabel 4.6, Gambar 4.1 dan Lampiran 7.

Pada media bakteri *S. aureus* ekstrak dengan konsentrasi 100 mg/mL menunjukkan diameter zona hambat sebesar 2,33 mm, konsentrasi 150 mg/mL menunjukkan diameter zona hambat sebesar 2,67 mm. Diameter zona hambat terus mengalami kenaikan pada konsentrasi 200-300 mg/mL yaitu sebesar 3; 6 dan 8,57 mm. Pada konsentrasi 350-450 mg/mL diameter zona hambat juga terus mengalami kenaikan yaitu sebesar 13; 13,33 dan 19 mm. Berdasarkan Tabel 4.6 dan Gambar 4.1 terlihat bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang berarti semakin besar kadar bahan aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* juga semakin besar.

Tabel 4.6. Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol

Konsentrasi (mg/mL)	Kekuatan cakram (µg)	Diameter zona hambat (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
100	2000	2,33	3,67
150	3000	2,67	5,67
200	4000	3,00	7,67
250	5000	6,00	6,00
300	6000	8,67	8,33
350	7000	13,00	11,00
400	8000	13,33	12,00
450	9000	19,00	13,00
Streptomisin	125	-	17,00
Penisilin	500	5,67	-



Gambar 4.1. Grafik Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol

Pada media bakteri *E. coli* diameter zona hambat terus mengalami kenaikan pada konsentrasi ekstrak 100-200 mg/mL yaitu sebesar 3,67; 5,67 dan 7,67 mm, sedangkan pada konsentrasi 250 mg/mL menunjukkan penurunan diameter zona hambat yaitu sebesar 6 mm. Penurunan diameter zona hambat ini diduga karena bakteri mengalami mekanisme resistensi non genetik yaitu bakteri dalam keadaan istirahat (inaktivasi metabolik) biasanya keadaan ini tidak dipengaruhi oleh antibakteri. Apabila bakteri berubah menjadi aktif kembali, maka bakteri kembali bersifat sensitif terhadap antibakteri seperti semula (Ganiswarna, 2003). Hal ini ditunjukkan oleh naiknya kembali nilai diameter zona hambat pada konsentrasi 300-450 mg/mL yaitu sebesar 8,33; 11; 12 dan 13 mm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak kasar etanol lebih tinggi terhadap bakteri *S. aureus* (gram positif) dibandingkan *E. coli* (gram negatif), hal ini ditunjukkan oleh nilai diameter zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* yang secara umum lebih besar dari pada bakteri *E. coli*. Zakaria *et al.*

(2007) juga menyatakan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh lebih efektif untuk bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif.

Berdasarkan Tabel 4.4 diketahui bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol lebih dominan daripada triterpenoid. Flavonoid merupakan senyawa yang cenderung bersifat polar, kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa lebih mudah menembus dinding sel bakteri *S. aureus* karena struktur dinding sel bakteri ini berlapis tunggal dan tersusun atas peptidoglikan (protein dan gula) serta lipid dengan kadar rendah (1-4 %), sehingga ekstrak etanol lebih mudah menembus dinding sel bakteri ini. Dinding sel bakteri *E. coli* lebih sulit ditembus senyawa yang bersifat polar karena struktur dinding sel bakteri ini berlapis tiga yang tersusun atas peptidoglikan dan lipid dengan kadar yang tinggi (11-22 %), sehingga ekstrak etanol lebih sulit menembus dinding sel bakteri ini.

Diameter zona hambat penisilin dengan konsentrasi 25 mg/mL (kekuatan cakram 500 µg) sebesar 5,67 mm, sedangkan diameter zona hambat streptomisin dengan konsentrasi 6,25 g/mL (kekuatan cakram 125 µg) sebesar 17 mm. Apabila diameter zona hambat ini disesuaikan dengan rujukan pada Lampiran 2, maka bakteri *S. aureus* termasuk bersifat resisten terhadap penisilin dan bakteri *E. coli* termasuk bersifat resisten terhadap streptomisin.

Diameter zona hambat hasil penelitian (Tabel 4.6) lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat kontrol positif (Lampiran 2). Hal ini menunjukkan bahwa kekuatan antibakteri pada ekstrak masih lebih lemah, sehingga bakteri *S. aureus* dan *E. coli* bersifat resisten terhadap ekstrak. Namun ekstrak buah belimbing wuluh tetap dianggap berpotensi sebagai antibakteri

karena ekstrak memberikan zona hambat mulai dari konsentrasi ekstrak 100-450 mg/mL. Zona hambat ditunjukkan oleh adanya daerah bening di sekitar cakram yang dikarenakan pada daerah tersebut tidak ditumbuhi bakteri.

Hasil analisis ragam pada Lampiran 6 menunjukkan pemberian ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) pada pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Dari Uji BNT (Lampiran 6) diketahui konsentrasi ekstrak 300, 350, 400 dan 450 mg/mL berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) di antara konsentrasi yang lain.

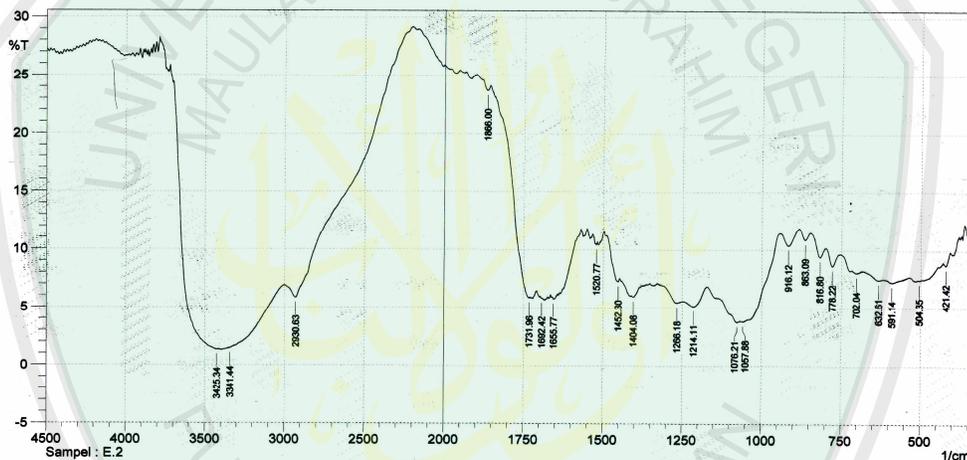
Ekstrak buah belimbing wuluh cukup stabil sebagai antibakteri, walaupun terjadi penurunan daya hambat. Hal ini ditunjukkan oleh masih adanya zona bening disekitar cakram yang berisi ekstrak dalam jangka waktu penyimpanan 3 hari (Lampiran 7).

#### **4.6. Karakteristik Gugus Fungsi Ekstrak Buah Belimbing Wuluh**

Spektra FTIR mempunyai sifat fisik dan karakteristik yang khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektra yang berbeda dan kemungkinan dua senyawa mempunyai spektra sama adalah sangat kecil (Hayati, 2007). Spektra FTIR dari ekstrak kasar buah belimbing wuluh dan interpretasinya dapat dilihat pada Gambar 4.2 dan Tabel 4.7.

Berdasarkan spektra FTIR ekstrak kasar buah belimbing wuluh pada Gambar 4.2. dapat dilihat adanya pita serapan yang menunjukkan adanya vibrasi ulur OH dari ikatan hidrogen intermolekuler pada daerah panjang gelombang 3425,34 dan 3341,44  $\text{cm}^{-1}$ . Vibrasi ulur  $\text{CH}_2$  asimetris dari gugus alkana

memberikan serapan pada bilangan gelombang 2930,63  $\text{cm}^{-1}$ . Pita serapan pada bilangan gelombang 1731,96 dan 1692,42  $\text{cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi ulur C=O keton alifatik dan aldehid, sedangkan serapan pada bilangan gelombang 1655,77  $\text{cm}^{-1}$  merupakan akibat dari vibrasi ulur C=C pada cincin aromatik fenol. Goyangan C-H dalam bidang dari aldehid alifatik memberikan serapan pada bilangan gelombang 1404,08  $\text{cm}^{-1}$ .



Gambar 4.2. Spektra FTIR dari Ekstrak Kasar Buah Belimbing Wuluh

Pita serapan pada bilangan gelombang 1266,18 dan 1214,11  $\text{cm}^{-1}$  merupakan vibrasi ulur R-O-Aromatik. Pita serapan pada bilangan gelombang 1076,21 dan 1057,88  $\text{cm}^{-1}$  merupakan vibrasi ulur C-O dari aromatik dan alkohol sekunder. Vibrasi tekuk dari C-H aromatik di luar bidang pada 816,80 dan 778,22  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan bahwa cincin benzena adalah disubstitusi dan trisubstitusi. Pita serapan pada bilangan gelombang 504,35  $\text{cm}^{-1}$  merupakan vibrasi tekuk C-O-C

dari eter, sedangkan serapan pada bilangan gelombang 421,42  $\text{cm}^{-1}$  merupakan vibrasi tekuk C-OH dalam bidang aromatik fenol.

Tabel 4.7. Interpretasi Spektra FTIR dari Ekstrak Kasar Buah Belimbing Wuluh

No	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )	Range ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensitas Referensi	Vibrasi Referensi
1.	3425,34	3550-3230	Sedang-kuat	Uluran O-H dari ikatan hidrogen intermolekuler
2.	3341,44			
3.	2930,63	2940-2915	Sedang-kuat	Uluran $\text{CH}_2$ asimetris pada gugus alkana
4.	1731,96	1745-1715	Sangat kuat	Uluran C=O dari keton alifatik
5.	1692,42	1715-1685	Sangat kuat	Uluran C=O pada gugus aldehid
6.	1655,77	1660	Kuat	Uluran C=C pada cincin aromatik fenol
7.	1452,30	1480-1440	Sedang	Guntingan $\text{CH}_2$
8.	1404,08	1440-1325	Sedang	Goyangan C-H ke dalam bidang dari aldehid alifatik
9.	1266,18	1310-1210	Sedang	Uluran R-O-Aromatik
10.	1214,11			
11.	1076,21	1085-1030	Kuat	Uluran C-O dari aromatik dan alkohol sekunder
12.	1057,88			
13.	916,12	960-900	Sedang	Tekukan C-O aromatik di luar bidang, disubstitusi benzena
14.	863,09	880-830	Sedang-kuat	
15.	816,80	820-765	Lemah-sedang	
16.	778,22	780-760	Kuat	Tekukan C-O aromatik di luar bidang, trisubstitusi benzena
17.	702,04	705	Lemah-sedang	
18.	632,61	690-610	Lemah	Tekukan CH kibasan dari $-\text{CH}=\text{CH}_2$
19.	504,35	580-505	Sedang-kuat	Tekukan C-O-C dari eter
20.	421,42	450-375	Lemah	Tekukan C-OH dalam bidang aromatik fenol

Sumber: Socrates (1994)

Berdasarkan hasil pengamatan spektra FTIR dapat diketahui bahwa pada ekstrak kasar buah belimbing wuluh terdapat gugus OH, C=O, C=C, CH, dan C-OH yang didukung adanya cincin aromatik tersubstitusi dan C-O dari alkohol sekunder, sehingga diperkirakan bahwa golongan senyawa aktif pada ekstrak kasar buah belimbing wuluh merupakan senyawa aromatik atau fenolik yaitu suatu jenis dari golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid. Spektra FTIR yang diperoleh masih kurang spesifik karena ekstrak buah belimbing wuluh yang digunakan merupakan ekstrak kasar, sehingga masih harus dilakukan fraksinasi.

#### 4.7. Pemanfaatan Belimbing Wuluh dalam Perspektif Islam

Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Banyak ayat Al-Qur'an yang mengajak manusia untuk berfikir dan menyelidiki tumbuh-tumbuhan agar mendapat manfaat yang lebih banyak. Allah berfirman:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

*“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (Q.S. An-Nahl: 11).*

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah-lah yang menumbuhkan tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan buah-buahan lain dengan air yang diturunkan

dari langit sebagai rizki dan makanan pokok bagi manusia. Allah menumbuhkan semua itu dengan maksud agar menjadi nikmat dan tanda kekuasaan-Nya bagi kaum yang mau mengambil pelajaran dan memikirkannya. Orang yang berfikir tentang hal ini akan mengetahui bahwa Tuhan yang mempunyai kekuasaan seperti ini tidak mungkin ada sesuatu pun yang menyerupai dan menyekutui-Nya (Al-Maraghi, 1992). Pemanfaatan tanaman sebagai obat merupakan salah satu sarana untuk mengambil pelajaran dan memikirkan tentang kekuasaan Allah.

Belimbing wuluh merupakan salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini telah dibuktikan dengan hasil penelitian identifikasi dan uji efektifitas senyawa aktif antibakteri pada buah belimbing wuluh ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar buah belimbing wuluh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* penyebab diare. Selain itu, buah belimbing wuluh memiliki bentuk dan rasa yang khas, hal ini sesuai dengan firman Allah dalam surat Al-An'am ayat 99 pada bab 2. Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan beragam jenis buah, setiap jenis memiliki bentuk, warna, bau dan rasa tersendiri meskipun semuanya tumbuh di tanah yang sama dan diairi dengan air yang sama.

Pemanfaatan buah belimbing wuluh sebagai obat bukanlah sesuatu yang melanggar syariat Islam, bahkan hal ini merupakan suatu upaya untuk mengikuti sunah Nabi. Kita dianjurkan untuk mengamalkan pengobatan, sesuai sabda Rasulullah SAW: *“Wahai hamba-hamba Allah berobatlah kalian karena tidaklah Allah Azza wa jalla menimpakan suatu macam penyakit kecuali telah Dia ciptakan obat untuknya, kecuali satu macam penyakit.”* Mereka bertanya: *“Apa*

penyakit itu?” jawab Beliau: “Penyakit tua (pikun)”. (HR. Ahmad, Ibnu Majah, Abu Daud, dan At- Tirmizi).

Semenjak zaman Rasulullah telah banyak dipraktikkan terapi dengan tumbuh-tumbuhan yang mengandung obat atau dikenal dengan terapi herba. Pada zaman Rasulullah belimbing wuluh belum dikenal dan ditemukan, sehingga belum dimanfaatkan sebagai obat. Pemanfaatan tanaman obat itu terus berkembang seiring dengan berkembangnya industri jamu atau obat tradisional, farmasi, kosmetik, makanan dan minuman.

Terapi herba memiliki banyak kelebihan dibandingkan obat-obatan kimiawi, sehingga pemanfaatan tumbuhan sebagai obat seharusnya lebih diutamakan sebelum beralih kepada obat-obatan kimiawi yang ada di masa sekarang ini. Ibnu Qayyim berkata: “ *Sungguh para tabib telah sepakat bahwa ketika memungkinkan pengobatan dengan bahan makanan maka jangan beralih kepada obat-obatan kimiawi*” (Anonymous, 2007<sup>b</sup>).

Pemanfaatan buah belimbing wuluh sebagai obat merupakan ikhtiyar untuk memperoleh kesembuhan dari Allah Yang Maha Penyembuh, karena merupakan kewajiban kita untuk berikhtiyar mengobati penyakit. Sungguh tidak ada yang dapat memberikan kesembuhan kecuali Allah SWT semata. Allah berfirman dalam surat Asy-Syu'ara ayat 80:

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبِهِ يَشْفِينِ .

”Dan apabila Aku sakit, dialah yang menyembuhkan aku”.

Sesungguhnya kesehatan merupakan suatu nikmat besar yang Allah berikan kepada manusia, akan tetapi nikmat tersebut kadang kurang disyukuri. Sakit merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan Allah SWT. Oleh karena itu, apabila jatuh sakit manusia hendaknya berfikir tentang makna yang terkandung dari musibah itu.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

1. Pelarut terbaik untuk memperoleh ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh adalah etanol. Hal ini didukung oleh berat ekstrak pekat, uji golongan senyawa aktif dan uji efektifitas antibakteri.
2. Golongan senyawa aktif dari ekstrak terbaik buah belimbing wuluh yang berpotensi sebagai antibakteri adalah flavonoid dan triterpenoid. Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya warna jingga (flavonoid) dan ungu-merah (triterpenoid) pada ekstrak etanol dan didukung oleh hasil identifikasi FTIR yang menunjukkan adanya gugus OH, C=O, C=C, CH, C-OH, cincin aromatik tersubstitusi dan C-O dari alkohol sekunder.
3. Ekstrak kasar buah belimbing wuluh masih kurang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, namun tetap dianggap berpotensi sebagai antibakteri. Dari uji BNT diketahui konsentrasi ekstrak 300, 350, 400 dan 450 mg/mL berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) di antara konsentrasi lain.

#### 5.2. Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang jenis dan struktur senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh, disarankan untuk melakukan analisis fraksinasi dan identifikasi dengan menggunakan spektroskopi NMR..

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M.M., 2006, *Anti Inflammatory Activities of Nigella sativa Linn (Kalongi, black seed)*, (Online), (<http://lailanurhayati.multiply.com/journal>, diakses 13 November 2007).
- Ajizah, A., 2004, *Sensitivitas Salmonella typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L.*, Bioscientiae, Vol.1, No.1: 31-38.
- Al-Maraghi, A.M., 1992, *Terjemah Tafsir Al-Maraghi*, Penerjemah: Abubakar, B., Aly, H.N., dan Sitanggal, A.U., Toha Putra, Semarang, hal 105-106.
- Anonymous, 2007<sup>a</sup>, *Vegetation: Belimbing Wuluh*, (Online), (<http://blog.360.yahoo.com/blog-jlVAipcyqjha6.QsE5bEBdhcQ--?cq=1&p=190>, diakses 17 Mei 2007).
- , 2007<sup>b</sup>, *Terapi Herba dan Bekam sebagai Solusi*, (Online), ([http://klik-brc.com/index.php?option=com\\_content&task=view&id=17&Itemid=32](http://klik-brc.com/index.php?option=com_content&task=view&id=17&Itemid=32), diakses 4 Januari 2008).
- , 2007<sup>c</sup>, *Islam Galakkan Bioteknologi untuk Kepentingan Manusia*, (Online), (<http://www.nbbnet.gov.my/directories/papercut/detail.php?id=728>, diakses 3 Desember 2007).
- Ardananurdin, A., Winarsih, S. dan Widayat, M., 2004, *Uji Efektivitas Dekok Bunga Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi) sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri Salmonella typhi Secara In Vitro*, Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol.XX, No.1: 31-36.
- Ardiansyah, 2005, *Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*, (Online), (<http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2005-05-31-Daun-Beluntas-Sebagai-Bahan-Antibakteri-dan-Antioksidan.shtml>, diakses 17 Juli 2007).
- Daintith, J., 1990, *Kamus Lengkap Kimia*, Erlangga, Jakarta, hal 178, 282, 327, 414-415, 443 dan 458.

- Entjang, I., 2003, *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*, PT. Citra Aditya Bakti, Bandung, hal 88-89.
- Faradisa, M., 2008, *Uji Efektifitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn)*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, Malang.
- Ganiswarna, S.G., 2003, *Farmakologi dan Terapi*, Universitas Indonesia, Jakarta, hal 573-575.
- Giwangkara, E.G., 2007, *Spektrofotometer Infra Merah Transformasi Fourier*, (Online), (<http://persembahanku.wordpress.com/2007/05/28/spektrofotometer-infra-merah-transformasi-fourier/>), diakses 1 Desember 2007).
- Guether, E., 1987, *Minyak Atsiri*, Jilid I, (diterjemahkan oleh Ketaren S.), Universitas Jakarta, Jakarta, hal 240-242.
- Harborne, J.B., 1984, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Penerbit ITB, Bandung, hal 47-109 dan 281.
- Hayati, E.K., 2007, *Dasar-Dasar Analisis Spektroskopi*, Universitas Islam Negeri (UIN) Malang, Malang, hal 35, 39 dan 41.
- Herlih, 1993, *Pengaruh Air Perasan Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap Kadar Kolesterol Serum Darah Tikus Putih*, (Online), ([http://warintek.ristek.go.id/pangan\\_kesehatan/tanaman\\_obat/pt/buku08.pdf](http://warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/pt/buku08.pdf)), diakses 30 Maret 2007).
- Iptek, 2007, *Belimbing Asam*, (Online), ([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 25 Maret 2007).
- Irwan, 1999, *Pemanfaatan Air Belimbing Wuluh sebagai Alternatif untuk Mengawetkan Ikan dan Daging*, (Online), (<http://www.smu-net.com/main.php?act=ai&xkd=20>), diakses 13 November 2007).
- Khopkar, S.M., 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI-Press, Jakarta, hal 231.

Kustoro, 2007, *Pengobatan Nabi*, (Online), (<http://kustoro.wordpress.com/2007/11/17/pengobatan-nabi/>), diakses 15 Januari 2008).

Lenny, S., 2006<sup>a</sup>, *Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp*, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan.

-----, 2006<sup>b</sup>, *Senyawa Terpenoida dan Steroida*, Karya Ilmiah Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara, Medan, hal 6 dan 14.

Mubarok, C.H., 2007, *Pengobatan Nabawiyyah (At-Thibbun Nabawi) Bukan Pengobatan Alternatif*, (Online), (<http://bandungruqyahcenter.blogspot.com/2007/07/pengobatan-nabawiyyah-at-thibbun-nabawi.html>), diakses 4 Januari 2008).

Pasya, A.F., 2004, *Dimensi Sains Al-Qur'an Menggali Ilmu Pengetahuan dari Al-Qur'an*, Tiga Serangkai, Solo, hal 174-175 dan 221-229.

Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S., 1986, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 1, Alih Bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., UI-Press, Jakarta, hal 117 dan 145-148.

-----, 1998, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 2, Alih Bahasa: Hadioetomo, R. S. & Tjitrosomo, S. L., UI-Press, Jakarta, hal 225-228, 949 dan 954.

Pino, J.A., Marbot, R., and Bello, A., 2004, *Volatile Components of Averrhoa bilimbi L. Fruit Grown in Cuba*, Journal of Essential Oil Research: JEOR, (Online), ([http://findarticles.com/p/articles/miqa4091/is200405/ain94520\\_07](http://findarticles.com/p/articles/miqa4091/is200405/ain94520_07)), diakses 1 Desember 2007).

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, ITB, Bandung, hal 71, 153-156, 191 dan 281.

Salsa, 2007, *Belimbing Wuluh sebagai Obat Batuk*, (Online), ([http://www.republika.co.id/suplemen/cetak\\_detail.asp?mid=2&id=91034&kat\\_id=105&katid1=150&kat\\_id2=187](http://www.republika.co.id/suplemen/cetak_detail.asp?mid=2&id=91034&kat_id=105&katid1=150&kat_id2=187)), diakses 25 Maret 2007).

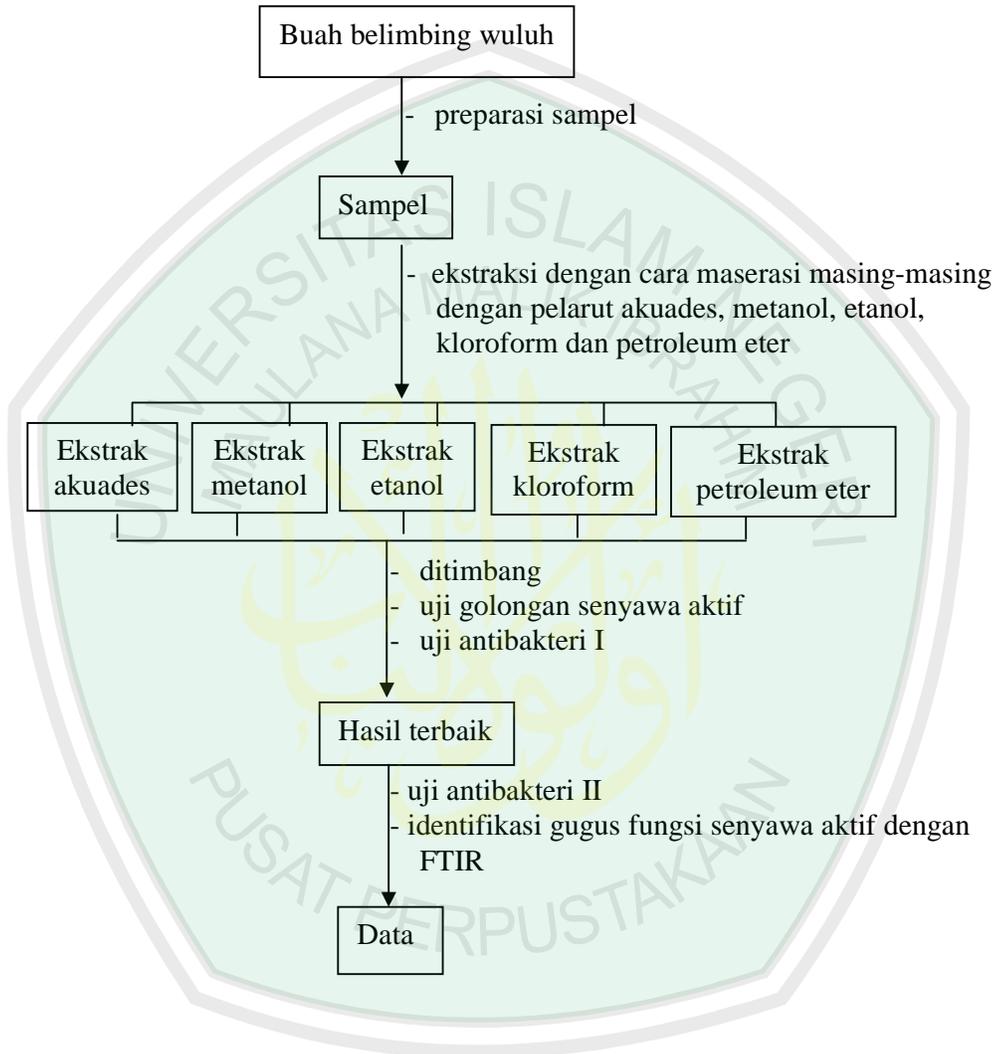
Shinta, 2002, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Anti Mikroba dari Daun Tumbuhan Piper sarmentosum Roxb. Ex Hunter*, (Online), (<http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbpp-gdl-s2-2002-shinta-1629-mikroba&q=Obat>), diakses 13 November 2007).

- Socrates, G., 1994, *Infrared Characteristic Group Frequencies*, John Wiley & Sons, England, p. 35-102.
- Soetan, K., Oyekunle, M., Aiyelaagbe, O., and Fafunso, M., 2006, *Evaluation of The Antimicrobial Activity of Saponins Extract of Sorghum Bicolor L. Moench*, African Journal of Biotechnology, (Online), 5(23): 2405-2407, (<http://www.academicjournals.org/AJB/>, diakses 13 November 2007).
- Subhadrabandhu, S., 2001, *Under-Utilized Tropical Fruits of Thailand*, (Online), (<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/004/ab777e/ab777e00.pdf>, diakses 12 Desember 2007).
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi, 2007, *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta, hal 93-94.
- Syukur, C., dan Hernani, 2002, *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*, Kanisius, Yogyakarta, hal 91.
- Thomas, A.N.S., 2007, *Tanaman Obat Tradisional 2*, Kanisius, Yogyakarta, hal 17-18.
- Vogel, A.I., 1990, *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, Diterjemahkan oleh: Setiono, L., dan Pudjaatmaka, A.H., Kalman Media Pusaka, Jakarta, hal 229.
- Volk, W.A., dan Wheeler, M.F., 1993, *Mikrobiologi Dasar*, Jilid I, Alih Bahasa: Markam, Erlangga, Jakarta, hal 33-40, 218-219 dan 266.
- Wong, K.C., and Wong, S.N., 1995, *Volatile Constituents of Averrhoa bilimbi L. Fruit*, (Online), (<http://www.fao.org/agris/search/display.do?jsessionid=64CA568915012C8FE790C67DEAD0375A?f=/1997/v2305/US9632171.xml;US9632171>, diakses 1 Desember 2007).
- Yahya, H., 2007, *Keindahan dalam Kehidupan*, (Online), (<http://www.harunyahyacom/indo/buku/keindahan5.htm>, diakses 4 Januari 2008).
- Zakaria, Z.A., Zaiton, H., Henie, E.F.P., Jais, A. M.M., and Zainuddin, E.N.H., 2007, *In Vitro Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi L. Leaves and Fruits Extracts*, International Journal of Tropical Medicine, (Online), 2(3):96-100, (<http://www.medwelljournals.com/fulltext/ijtm/2007/96-100.pdf>, diakses 1 Desember 2007).

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema Kerja

#### 1. Diagram Alir Penelitian

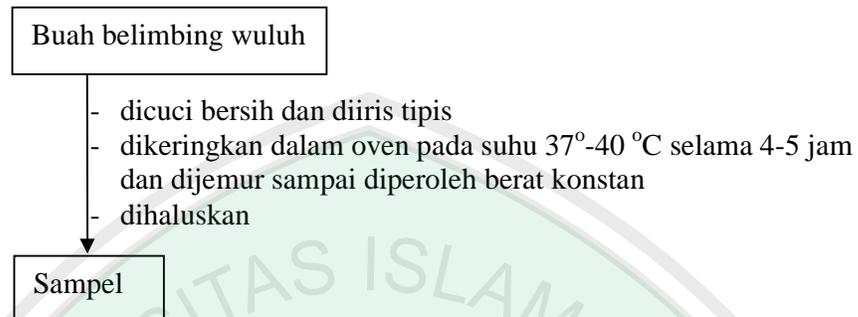


#### Keterangan:

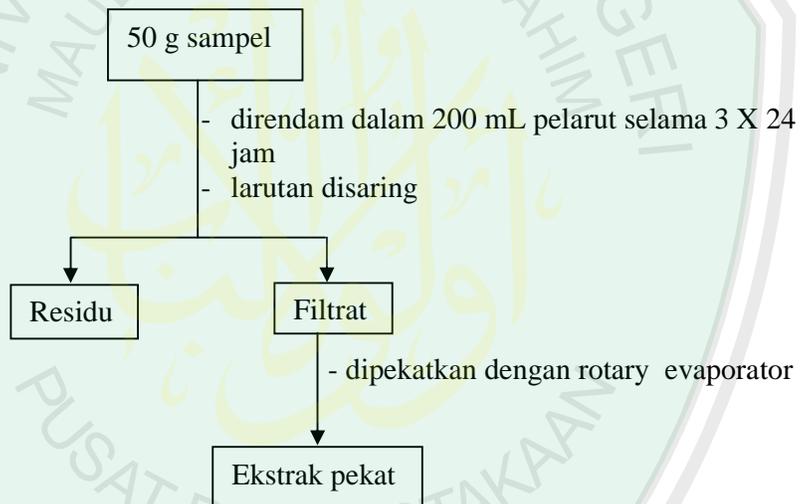
- Uji antibakteri I dengan konsentrasi ekstrak 100 mg/mL
- Uji antibakteri II dengan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 dan 450 mg/mL

Lanjutan Lampiran 1

2. Preparasi Sampel



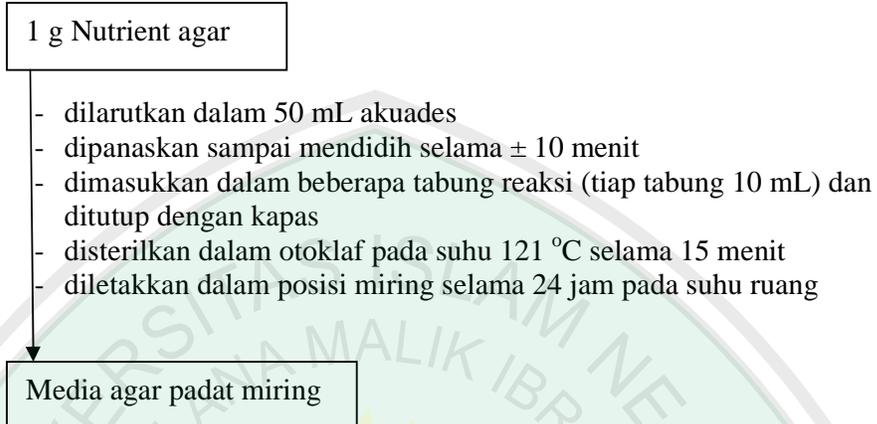
3. Ekstraksi Buah Belimbing Wuluh dengan Metode Maserasi



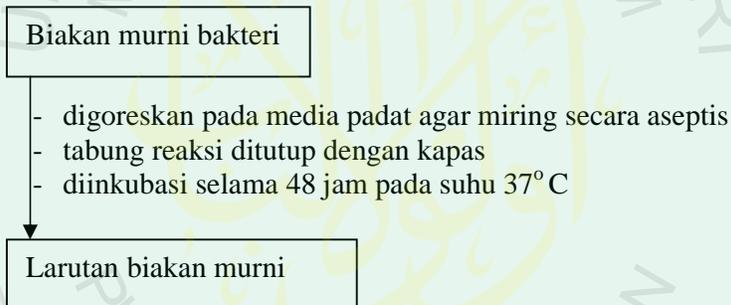
Keterangan: pelarut yang digunakan adalah akuades, metanol, etanol, kloroform dan petroleum eter.

Lanjutan Lampiran 1

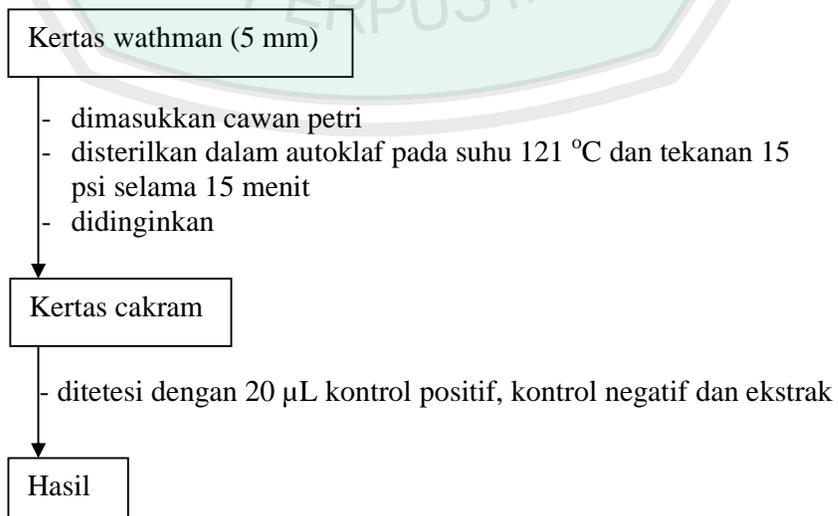
4. Penyediaan Media



5. Peremajaan Biakan Murni

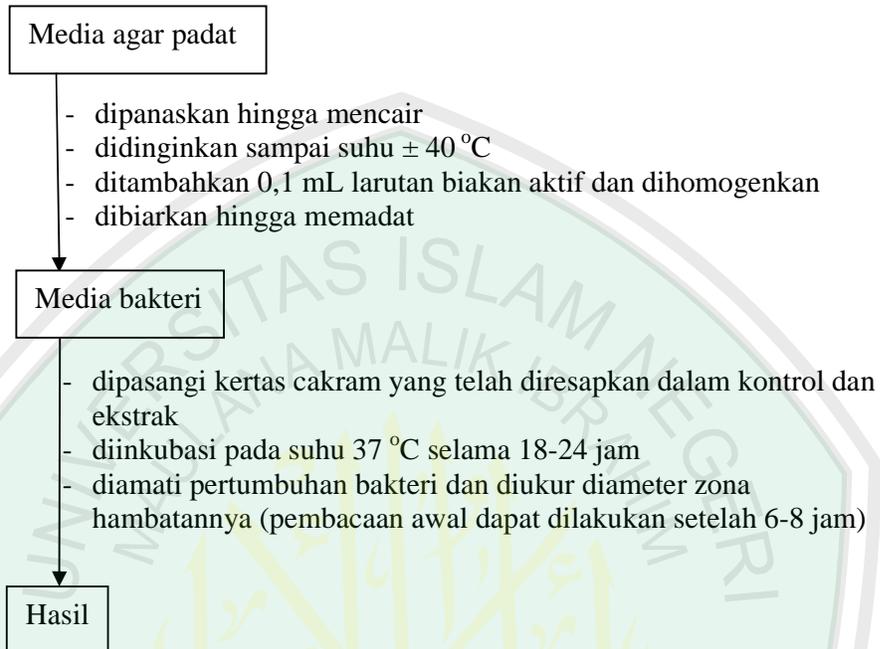


6. Pembuatan dan Peresapan pada Kertas Cakram

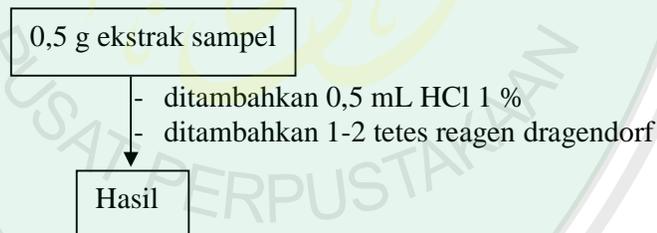


Lanjutan Lampiran 1

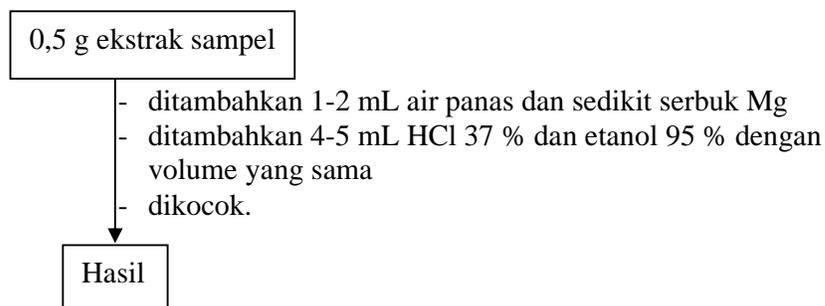
7. Uji Antibakteri



8. Uji Alkaloid

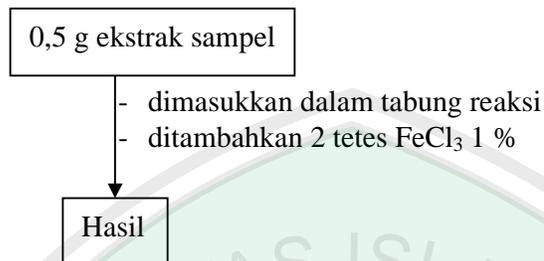


9. Uji Flavonoid

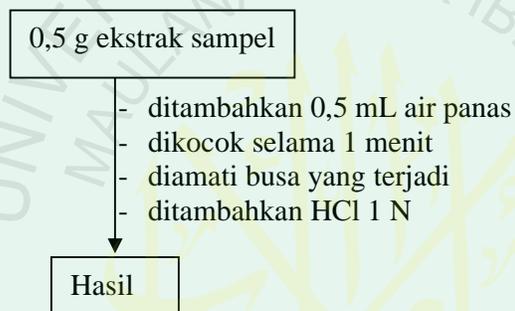


Lanjutan Lampiran 1

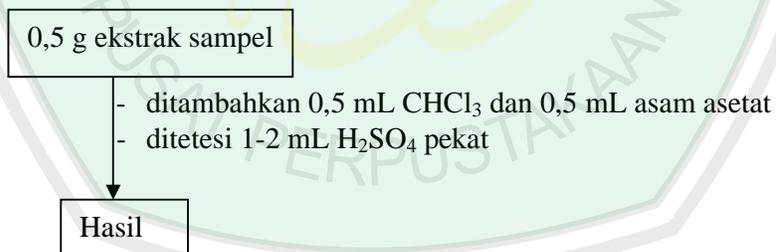
10. Uji Tanin



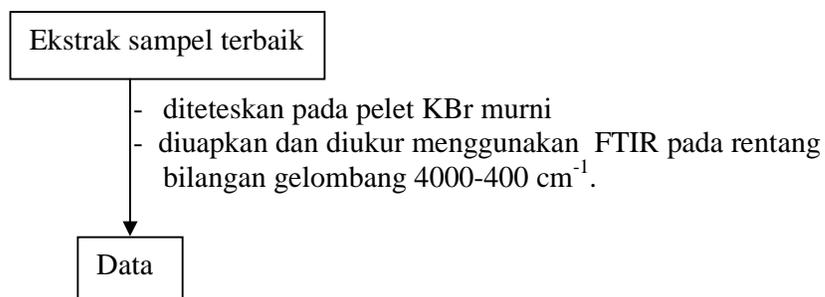
11. Uji Saponin



12. Uji Triterpenoid dan Steroid



13. Identifikasi Gugus Fungsi Senyawa Aktif



**Lampiran 2. Ukuran Daerah dan Interpretasinya untuk Kemoterapeutik yang sering Digunakan**

Antibiotik atau agen kemoterapeutik	Potensi lempengan	Diameter daerah penghambatan sampai milimeter terdekat		
		Resisten	Pertengahan	Peka
Ampisilin				
<i>S. aureus</i>	10 µg	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
Semua organisme lain	10 µg	11 atau kurang	12-13	14 atau lebih
Basitrasin	10 units	8 atau kurang	9-12	13 atau lebih
Sefalotin	30 µg	14 atau kurang	15-17	18 atau lebih
Kloramfenikol	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
Kanamisin	30 µg	13 atau kurang	14-17	18 atau lebih
Linkomisin*	2 µg			17 atau lebih
Metisilin	5 µg	9 atau kurang	10-13	14 atau lebih
Asam Nalidiksats†	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
Oleandomisin	15 µg	11 atau kurang	12-16	17 atau lebih
Penisilin-G	10 µg	20 atau kurang	21-28	29 atau lebih
Polimisin-B	300 units	8 atau kurang	9-11	12 atau lebih
Streptomisin	10 µg	11 atau kurang	12-14	15 atau lebih
Sulfonamida§	300 µg	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

\* Standar tentatif

† Standar berlaku untuk infeksi saluran urine saja

‡ Ukuran daerah tidak berlaku apabila daerah ditambahkan pada medium

§ Lempengan sulfonamida 300 atau 250 µg mana saja yang diperoleh di pasaran mungkin digunakan dengan standar penafsiran zona yang sama

Sumber: Volk and Wheeler (1993).

### Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Sampel Kering

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot sampel kering}}{\text{bobot sampel awal}} \times 100 \% \\ &= \frac{600 \text{ g}}{11000 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 5,45 \%\end{aligned}$$



#### Lampiran 4. Perhitungan Kekuatan Cakram

Pada penelitian ini 1 cakram ditetesi dengan 20  $\mu\text{L}$  ekstrak dan kontrol (Zakaria *et al.*, 2007), maka kekuatan cakrahnya adalah:

##### 1. Ekstrak Kasar

$$100 \text{ mg/mL} = 100 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 100 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 2000 \mu\text{g}$$

$$150 \text{ mg/mL} = 150 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 150 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 3000 \mu\text{g}$$

$$200 \text{ mg/mL} = 200 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 200 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 4000 \mu\text{g}$$

$$250 \text{ mg/mL} = 250 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 250 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 5000 \mu\text{g}$$

$$300 \text{ mg/mL} = 300 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 300 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 6000 \mu\text{g}$$

$$350 \text{ mg/mL} = 350 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 350 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 7000 \mu\text{g}$$

$$400 \text{ mg/mL} = 400 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 400 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 8000 \mu\text{g}$$

$$450 \text{ mg/mL} = 450 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 450 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 9000 \mu\text{g}$$

##### 2. Kontrol Positif (Soetan *et al.*, 2006)

$$\text{Penisilin } 25 \text{ mg/mL} = 25 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 25 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 500 \mu\text{g}$$

$$\text{Streptomisin } 6,25 \text{ mg/mL} = 6,25 \mu\text{g}/\mu\text{L}$$

$$\text{jadi } 6,25 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 20 \mu\text{L} = 125 \mu\text{g}$$

## Lampiran 5. Data Uji Efektifitas Antibakteri

### 1. Hasil uji efektifitas antibakteri terhadap *S. aureus*

Cakram	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Ekstrak akuades	5	4	3	4,00
Ekstrak metanol	2	2	3	2,33
Ekstrak etanol	6	7	7	6,67
Ekstrak kloroform	2	1	1	1,33
Ekstrak petroleum eter	-	-	-	-
Akuades	-	-	-	-
Metanol	-	-	-	-
Etanol	-	-	-	-
Kloroform	-	-	-	-
Petroleum eter	-	-	-	-
Penisilin	7	5	5	5,67

### 2. Hasil uji efektifitas antibakteri terhadap *E. coli*

Cakram	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Ekstrak akuades	4	6	5	5,00
Ekstrak metanol	3	6	3	4,00
Ekstrak etanol	5	6	7	6,00
Ekstrak kloroform	-	-	-	-
Ekstrak petroleum eter	-	-	-	-
Akuades	-	-	-	-
Metanol	-	-	-	-
Etanol	-	-	-	-
Kloroform	-	-	-	-
Petroleum eter	-	-	-	-
Streptomisin	16	18	17	17,00

## Lampiran 6. Uji Statistik

Data pemberian ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri.

### 1. Bakteri *S. aureus*

Tabel Hasil Uji Antibakteri pada *S. aureus*

Konsentrasi (mg/mL)	Diameter zona hambat (mm)			Total	Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
100	3	2	2	7	2,33
150	2	4	2	8	2,67
200	3	4	2	9	3,00
250	5	8	5	18	6,00
300	9	8	9	26	8,67
350	13	15	11	39	13,00
400	19	15	6	40	13,33
450	20	22	15	57	19,00
Total	74	78	52	204	

$$\begin{aligned}
 \text{FK} &= Y^2 / rp \\
 &= (204)^2 / 3 \times 8 \\
 &= 1734
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK}_{\text{Total}} &= \sum_i \sum_j Y^2 - \text{FK} \\
 &= 3^2 + 2^2 + \dots + 15^2 - 1734 \\
 &= 922
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK}_{\text{Perlakuan}} &= \sum_i (\sum_j Y_{ij})^2 / r - \text{FK} \\
 &= 7^2 + 8^2 + \dots + 57^2 / 3 - 1734 \\
 &= 787,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK}_{\text{Ulangan}} &= \sum_j (\sum_i Y_{ij})^2 / p - \text{FK} \\
 &= 74^2 + 78^2 + 52^2 / 8 - 1734 \\
 &= 49
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Ulangan}} \\
 &= 922 - 787,33 - 49 \\
 &= 85,67
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Ragam Satu Arah

SK	db	JK	KT	F	
				Hitung	Tabel 1 %
Perlakuan	7	787,33	112,48	18,38	4,28
Ulangan	2	49,00	24,5	4,00	6,51
Galat percobaan	14	85,67	6,12		
Total	23	922,00			

Berdasarkan analisis ragam di atas  $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}} (7,14)$  maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) pada pertumbuhan bakteri *S. aureus*, sehingga dilakukan pengujian lebih lanjut dengan uji BNT untuk mengetahui perlakuan mana yang berpengaruh.

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= t_{\text{tabel}}^{(0,01/2)} (14) \sqrt{2KTG/n} \\
 &= 2,977 \times \sqrt{(2 \times 6,12)/3} \\
 &= 6,01
 \end{aligned}$$

Tabel Hasil Uji BNT

Perlakuan dan nilai tengahnya	Perlakuan dan nilai tengahnya							
	(1) 2,33	(2) 2,67	(3) 3,00	(4) 6,00	(5) 8,67	(6) 13,00	(7) 13,33	(8) 19,00
(1) 2,33	-	0,34	0,67	3,67	6,34*	10,67*	11,00*	16,67*
(2) 2,67	-	-	0,33	3,33	6,00	10,33*	10,66*	16,33*
(3) 3,00	-	-	-	3,00	5,67	10,00*	10,33*	16,00*
(4) 6,00	-	-	-	-	2,67	7,00*	7,33*	13,00*
(5) 8,67	-	-	-	-	-	4,33	4,66	10,33*
(6) 13,00	-	-	-	-	-	-	0,33	6,00
(7) 13,33	-	-	-	-	-	-	-	5,67
(8) 19,00	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : \*) = berbeda sangat nyata pada taraf 0,01

Jadi konsentrasi ekstrak 300, 350, 400 dan 450 mg/mL berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) pada pertumbuhan bakteri *S. aureus* di antara konsentrasi lain.

## 2. Bakteri *E. coli*

Tabel Hasil Uji Antibakteri pada *E. coli*

Konsentrasi (mg/mL)	Diameter zona hambat (mm)			Total	Rata-rata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
100	2	3	6	11	3,67
150	6	7	4	17	5,67
200	9	7	7	23	7,67
250	6	5	7	18	6,00
300	7	7	11	25	8,33
350	11	12	10	33	11,00
400	12	11	13	36	12,00
450	15	13	11	39	13,00
Total	68	65	69	202	

$$\begin{aligned}
 FK &= Y^2 / rp \\
 &= (202)^2 / 3 \times 8 \\
 &= 1700,17
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Total}} &= \sum_i \sum_j Y_{ij}^2 - FK \\
 &= 2^2 + 3^2 + \dots + 11^2 - 1700,17 \\
 &= 271,83
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Perlakuan}} &= \sum_i (\sum_j Y_{ij})^2 / r - FK \\
 &= 11^2 + 17^2 + \dots + 39^2 / 3 - 1700,17 \\
 &= 231,16
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Ulangan}} &= \sum_j (\sum_i Y_{ij})^2 / p - FK \\
 &= 68^2 + 65^2 + 69^2 / 8 - 1700,17 \\
 &= 1,08
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Ulangan}} \\
 &= 271,83 - 231,16 - 1,08 \\
 &= 39,59
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Ragam Satu Arah

SK	db	JK	KT	F	
				Hitung	Tabel 1 %
Perlakuan	7	231,16	33,02	11,67	4,28
Ulangan	2	1,08	0,54	0,19	6,51
Galat percobaan	14	39,59	2,83		
Total	23	271,83			

Berdasarkan analisis ragam di atas  $F_{hitung} > F_{tabel} (7,14)$  maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) pada pertumbuhan bakteri *E. coli*, sehingga dilakukan pengujian lebih lanjut dengan uji BNT untuk mengetahui perlakuan mana yang berpengaruh.

$$\begin{aligned}
 \text{BNT} &= t_{tabel}^{(0,01/2)} (14) \sqrt{2KTG/n} \\
 &= 2,977 \times \sqrt{(2 \times 2,83)/3} \\
 &= 4,08
 \end{aligned}$$

Tabel Hasil Uji BNT

Perlakuan dan nilai tengahnya	Perlakuan dan nilai tengahnya							
	(1) 3,67	(2) 5,67	(3) 6,00	(4) 7,67	(5) 8,33	(6) 11,00	(7) 12,00	(8) 13,00
(1) 3,67	-	2,00	2,33	4,00	4,66*	7,33*	8,33*	9,33*
(2) 5,67	-	-	0,33	2,00	2,66	5,33*	6,33*	7,33*
(3) 6,00	-	-	-	1,67	2,33	5,00*	6,00*	7,00*
(4) 7,67	-	-	-	-	0,66	3,33	4,33*	5,33*
(5) 8,33	-	-	-	-	-	2,67	3,67	4,67*
(6) 11,00	-	-	-	-	-	-	1,00	2,00
(7) 12,00	-	-	-	-	-	-	-	1,00
(8) 13,00	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : \*) = berbeda sangat nyata pada taraf 0,01

Jadi konsentrasi ekstrak 300, 350, 400 dan 450 mg/ mL berpengaruh sangat nyata ( $p < 0,01$ ) pada pertumbuhan bakteri *E. coli* di antara konsentrasi lain.

## Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

### 1. Gambar Buah Belimbing Wuluh dan Sampel



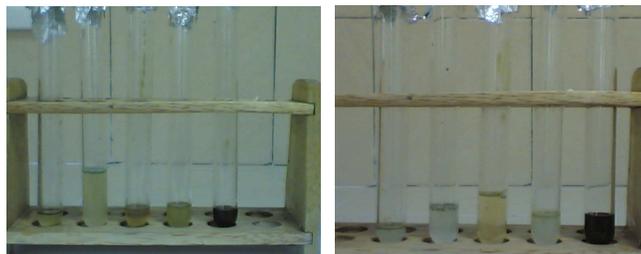
### 2. Gambar Maserasi, Filtrat dan Ekstrak Pekat



### 3. Gambar Hasil Uji Golongan Senyawa Aktif dari Berbagai Pelarut (kiri-kanan: uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid/steroid)



Ekstrak akuades, metanol dan etanol



Ekstrak kloroform dan petroleum eter

Lanjutan Lampiran 7

4. Gambar Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Berbagai Ekstrak



Hasil uji antibakteri ekstrak akuades terhadap *E. coli* (kiri) dan *S. aureus* (kanan)



Hasil uji antibakteri ekstrak metanol terhadap *E. coli* (kiri) dan *S. aureus* (kanan)

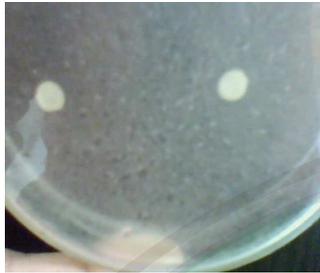


Hasil uji antibakteri ekstrak etanol terhadap *E. coli* (kiri) dan *S. aureus* (kanan)



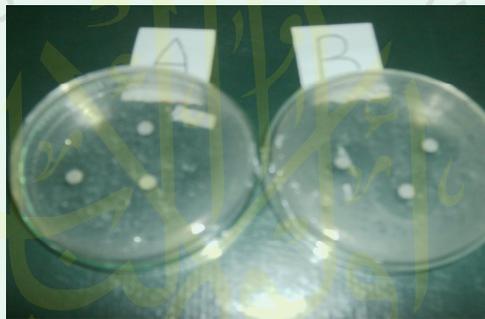
Hasil uji antibakteri ekstrak kloroform terhadap *E. coli* (kiri) dan *S. aureus* (kanan)

Lanjutan Lampiran 7



Hasil uji antibakteri ekstrak petroleum eter terhadap *E. coli* (kiri) dan *S. aureus* (kanan)

5. Gambar Hasil Uji Kontrol Positif dan Negatif



Hasil uji kontrol positif penisilin (*S.aureus*) dan streptomisin(*E. coli*)



Hasil uji kontrol negatif akuades terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Lanjutan Lampiran 7



Hasil uji kontrol negatif metanol terhadap *S. aureus* (kiri) dan *E. coli* (kanan)



Hasil uji kontrol negatif etanol terhadap *S. aureus* (kiri) dan *E. coli* (kanan)



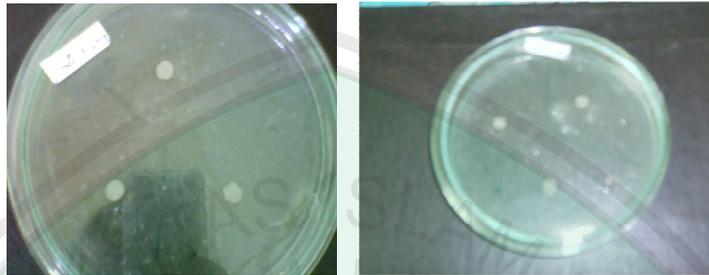
Hasil uji kontrol negatif kloroform terhadap *S. aureus* (kiri) dan *E. coli* (kanan)



Hasil uji kontrol negatif petroleum eter terhadap *S. aureus* (kiri) dan *E. coli* (kanan)

Lanjutan Lampuran 7

6. Gambar Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol  
(kiri-kanan: *E. coli* dan *S. aureus*)



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 100 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 150 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 200 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 250 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Lanjutan Lampiran 7



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 300 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 350 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



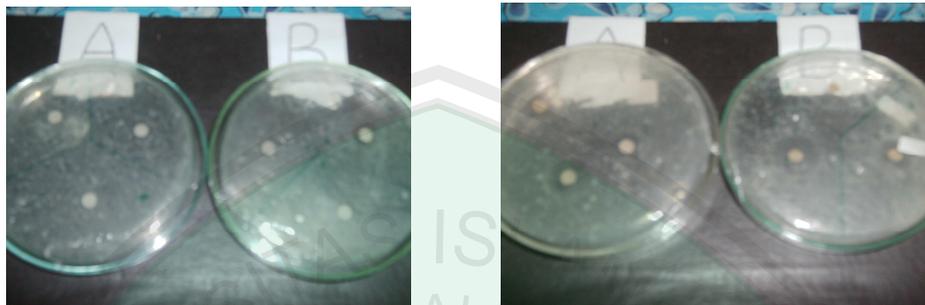
Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 400 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*



Hasil uji antibakteri pada konsentrasi 450 mg/mL terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Lanjutan Lampiran 7

7. Gambar Hasil Uji Kestabilan Antibakteri



Gambar kestabilan antibakteri pada konsentrasi 100 dan 450 mg/mL terhadap *S. aureus* (A) dan *E. coli* (B) dalam jangka waktu penyimpanan 3 hari

8. Gambar Rotary Evaporator dan Spektrofotometer FTIR

