

**FORMULASI DAN UJI IRITASI GEL ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK
ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* Linn)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas
aeruginosa***

[*FORMULATION AND IRRITATION TEST OF ANTIBACTERIAL GEL FROM
STAR FRUIT LEAVES (Averrhoa bilimbi Linn.) ETHANOL EXTRACTED AGAINST
BACTERIA Staphylococcus aureus AND Pseudomonas aeruginosa*]

Sutriningsih^{1*}, Zuraida Sagala^{2*}, Marhamah³

^{1,2,3} Department Pharmacy Universitas 17 Agustus 1945
Jl.Sunter Permai Raya Jakarta 14350.

*Korespondensi penulis : ¹ Sutriningsih, vinnelaras@yahoo.co.id
² Zuraida Sagala, zoerasagala@gmail.com

ABSTRACT

Starfruit (Averrhoa bilimbi Linn.) is containing several chemical contents including tannins, alkaloids, flavonoids, polyphenols and saponins, which can be efficacious as an antibacterial. The purpose of this study is determine stability of gel and the effect of gel formulation ethanol extracted from leaves starfruit (Averrhoa bilimbi Linn.) against the antibacterial activity of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. This is an experimental laboratory research where the formulation of ethanol extracted from the leaves of starfruit (Averrhoa bilimbi Linn.) which obtained from the process of maceration with 96% of ethanol solvent formulated in a gel dosage form. Gel formulations of the ethanol extracted from leaves starfruit was made with various concentration of the extract including 35%, 50% and 65% with hidroksi propil metil cellulose (HPMC) as the base. We used without-extract as the negative control and 0.1% of gentamicin ointment as the positive control. The result gel from antibacterial activity was then processed using the agar diffusion method .The use of a gel formulation ethanol extracted from leaves starfruit affected the antibacterial activity of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa . The results showed that the ethanol gel extracted from leaves starfruit (Averrhoa bilimbi Linn.) had the best antibacterial activity, indicated by 65% gel concentration containing the ethanol extracted from leaves starfruit being able to inhibit the growth of Staphylococcus aureus that for 28.62 mm with greater barrier diameter and Pseudomonas aeruginosa for 19 mm. Irritation test to 20 female with age 20 – 30 years old man and woman with put it on the back of hands for 2 hours in 3 days and the result is no irritation indication happend . Gel stability was had test for 4 weeks and nothing change happend .

Keywords : Gel, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Starfruit

ABSTRAK

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) merupakan tanaman yang memiliki kandungan kimia tanin, alkaloid, flavanoid, polifenol dan saponin yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui stabilitas gel dan pengaruh formulasi sediaan gel ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan kemudian di lakukan uji iritasi kepada 20 orang sukarelawan wanita yang berusia 20 – 30 tahun dengan dioleskan di punggung telapak tangan selama 2 jam selama 3 hari. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dimana dibuat formula ekstrak etanol daun belimbing wuluh yang diperoleh dari proses maserasi dengan pelarut etanol 96% diformulasikan dalam bentuk gel. Formulasi gel ekstrak etanol daun belimbing wuluh dibuat dengan variasi konsentrasi 3 formula dengan konsentrasi ekstrak yaitu 35%, 50% dan 65% dengan *hidroksi propil metil selulosa (HPMC)* sebagai basisnya. Untuk kontrol negatif digunakan gel tanpa ekstrak (basis gel) dan kontrol positif digunakan salep gentamisin 0,1%. aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dengan cara difusi sumuran. Evaluasi stabilitas dilakukan uji pH . Penggunaan formulasi gel ekstrak etanol daun belimbing wuluh mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa gel terbaik dari konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh(*Averrhoa bilimbi* Linn.) memiliki aktivitas antibakteri dari Sediaan gel pada konsentrasi 65% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 28,62mm dengan diameter hambatan yang lebih besar dari *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 19 mm. Hasil pemeriksaan stabilitas gel tidak terjadi perubahan pH selama 4 minggu penyimpanan dan tidak terjadi iritasi pada kulit.

Kata kunci : Daun Belimbing Wuluh, Gel, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Perkembangan penggunaan obat-obatan tradisional seiring berjalannya waktu, serta berkembangnya pengetahuan maka ditemukanlah sediaan kosmetik yang lebih modern seperti sediaan yang berbentuk gel, khususnya dari tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai kosmetik (Pramono, 2002).

Sediaan gel memiliki kandungan air yang bersifat yaitu mendinginkan, menyejukkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit, sehingga memberikan efek seperti penyembuhan (Septiani *et al.*, 2011).

Berbagai macam antimikroba banyak ditemukan dari bahan alam seperti pada tanaman, rempah-rempah atau dari mikroorganisme selain antimikroba yang diperoleh dari bahan-bahan sintetik (Gobel, 2008). Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daun belimbing wuluh. Kandungan yang terdapat dalam tanaman ini adalah tanin, flavonoid, glukosida, asam formiat, asam sitrat, dan beberapa mineral terutama kalsium dan kalium (Sukadana, 2007).

Tanin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Hayati *et al.*, 2010).

Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini

bersifat invasif, toksigenik, dan sering terdapat sebagai flora usus normal pada kulit manusia serta merupakan patogen utama dari kelompoknya (Jawetz *et al.*, 1991).

Berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk membuat formulasi dan mengevaluasi sediaan gel antibakteri dari ekstrak etanol tanaman daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer 25mL, 50mL, 100 mL, dan 250 mL (merek *Pyrex*), labu ukur 10 mL dan 100 mL (merek *Pyrex*), *beaker glass* 50 mL, 100, dan 250 mL (merek *Pyrex*), *glass* ukur 50 mL, 100, dan 250 mL (merek *Pyrex*), tabung reaksi, rak tabung, botol coklat gelap, *waterbath*, pipet tetes, pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL, dan 10 mL (merek *Pyrex*), penjepit tabung, pisau, blender, timbangan analitik (HWH), cawan uap, corong, *rotary evaporator*, batang pengaduk, kertas saring, kertas coklat, oven, Autoklaf, Inkubator, Cawan petri, Mikro pipet, Pinset, Kawat ose, silinder *cup*, jangka sorong, kaca objek, kaca bulat berdiameter 15 cm, kompor listrik (merek Maspion), *Viskometer Brookfield Synchro-Electric*, pH meter *beckman*, bunsen, dan *Laminar Air Flow* (LAF).

Bahan yang digunakan adalah daun belimbing wuluh, bakteri uji adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Media uji adalah *Tryptone soya agar* (TSA), *centrimide agar* dan *mueller hinton agar*. Bahan tambahannya *hidroksi propil metil cellulosa* (HPMC), *etanol 96%*, *alkohol 70%*, *metil paraben*, *propilen glikol*, *Nacl 0,9%*, *aquadest* dan *gentamisin salep 0,1%*.

Metode Penelitian

Identifikasi Daun Belimbing Wuluh

Identifikasi dilakukan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl. Ir. H. Juanda No.18, Bogor, Jawa Barat.

Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 400 gram serbuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn)

dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 hari hingga didapat serbuk daun belimbing wuluh kemudian dimasukkan ke wadah tertutup. Selanjutnya ditambahkan pelarut etanol 96%. Kemudian daun belimbing wuluh direndam dan ditutup dengan aluminium foil. Proses dilakukan secara maserasi selama 3x24 jam. Kemudian dilakukan penyaringan dan didapatkan filtratnya. Filtrat kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 50-60⁰C hingga pekat dan bebas dari pelarut. Kemudian ekstrak dikentalkan dengan menggunakan *water bath* sampai didapatkan ekstrak kental. Kemudian uji karakteristik yaitu organoleptis (identifikasi warna, bau dan rasa), rendemen, susut pengeringan dan skrining fitokimia (Faharani, 2009).

Rancangan Formula (Draelos dan Lauren 2006)

Tabel 1. Rancangan formulasi sediaan gel dari ekstrak etanol 96% daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn).

No	Bahan	Formula	Formula	Formula	Kegunaan
		FI 35%	FII 50%	FIII 65%	
1.	Ekstrak Daun Belimbing wuluh	7	10	13	Zat Akif
2.	Hidroksi propil metil selulosa	1,35	1,35	1,35	Basis gel
3.	Propilenglikol	4,5	4,5	4,5	Humektan
4.	Metilparaben	0,05	0,05	0,05	Pengawet
5.	Aquadest	Ad 30 mL	Ad 30 mL	Ad 30 mL	Pelarut

Keterangan : Ad 30 mL = ... sampai dengan 30 mL

Pembuatan Gel ekstrak Etanol 96% Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 30 ml aquadest dipanaskan hingga mencapai 80°C ditambahkan hidroksi propil metil selulosa (HPMC) sampai mengembang dan terbentuk basis gel, kemudian ditambahkan metil paraben sebagai pengawet yang sudah dilarutkan dengan air panas, propilenglikol digerus bersama ekstrak etanol daun belimbing wuluh dicampur sampai merata tambah aquadest diaduk sampai merata (Hertiani *et al.*, 2003). Lalu dilakukan serangkaian evaluasi seperti evaluasi sediaan fisik gel, uji aktivitas antibakteri formulasi gel dan uji iritasi kepada 20 orang sukarelawan (Suardi *et al.*, 2008).

Evaluasi Sediaan Fisik Gel

Evaluasi yang dilakukan meliputi Uji Organoleptik, Pengujian Homogenitas atau merata, Pengujian pH, Uji Daya Sebar dan Pengujian Viskositas.

Uji Aktivitas Antibakteri Formulasi Gel Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa*

Semua peralatan dan bahan yang akan digunakan disterilkan. Kemudian pembuatan suspensi bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Penyiapan media dilakukan dengan difusi padat dengan cara sumuran. Suspensi bakteri sebanyak 100µL yang telah

disamakan kekeruhannya dengan standar Mc.Farland $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dimasukkan dalam media. Campuran tersebut tuang segera sebanyak 25ml kedalam cawan petri steril, lalu biarkan memadat. Buat 5 hole, 3 hole untuk ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi yang berbeda yang telah dibuat dalam formula gel, 1 hole untuk kontrol negatif yaitu Formula gel tanpa ekstrak etanol daun Belimbing Wuluh, dan 1 hole untuk kontrol positif (Gentamisin Salep 0,1%). Tetesi masing-masing ke dalam hole 0,1 ml ekstrak daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 35 %, 50%, 65 % dan pada 1 hole 0,1 ml untuk kontrol negatif, dan 0,1 ml untuk kontrol posi-tif pada hole yang lainnya. Cawan petri di inkubasikan selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C. Tampak jernih yang tidak ditumbuhi oleh bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa*. Kemudian dilihat dan diukur daerah zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Percobaan dilakukan yaitu dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing formulasi gel (Ricko, 2011).

Uji Iritasi

Pengujian iritasi sediaan gel dengan teknik *patch test*, dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan formula (FI, FII FIII) pada punggung tangan sukarelawan.

Pengujian ini dilakukan terhadap 20 orang relawan dengan kontrol positif yaitu ekstrak murni tanpa campuran bahan pembuat gel lainnya lalu diamati gejala yang timbul, apabila terjadi iritasi akan ditunjukkan dengan adanya reaksi kulit setelah sediaan dioleskan pada kulit. Iritasi yang terjadi sesaat setelah pelekatan disebut iritasi primer, sedangkan jika terjadi setelah beberapa jam pelekatan disebut iritasi sekunder (Direktorat Jenderal Pemeriksaan Obat dan Makanan, 1985).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun Belimbing Wuluh terhadap *S aureus* dengan metode difusi sumuran

<i>S. aureus</i>	K (+)	Formula		
		I	II	III
Perlakuan 1	29 mm	20 mm	24 mm	32 mm
Perlakuan 2	40 mm	25 mm	32 mm	35 mm
Perlakuan 3	28 mm	20,5 mm	25,5 mm	22 mm
Perlakuan 4	26 mm	18 mm	20 mm	25,5 mm
Rata – Rata	30,75 mm	20,87 mm	25,37 mm	28,62 mm

Pada tabel 2 formula ke III memiliki daya hambat yang maksimal dan nilai rata - ratanya mendekati nilai rata-rata kontrol positif (salep gentamicin) dibanding dengan formula I dan formula II di karenakan jumlah ekstrak bahan utama yaitu daun Belimbing Wuluh paling besar konsentrasinya.

Hasil data zona hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada tabel dan 2 dan 3 diatas menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi semakin besar juga zona hambat dari zat aktif. Pada konsentrasi 35% yaitu formula I ekstrak etanol daun belimbing wuluh sudah memberikan zona hambat tetapi tidak maksimal.

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 25,37 mm, dan formula III konsentrasi 65% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 28,62 mm. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* kontrol positif (salep gentamicin) memiliki zona hambatan nilai rata-rata yaitu 28,9 mm, Formula I konsentrasi 35% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 17,37 mm, formulasi II konsentrasi 50% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 18,5 mm dan formulasi III konsentrasi dan 65% memiliki zona hambat rata-rata sebesar 19 mm. Hal ini terlihat dari adanya perbedaan besar diameter daya hambat dari hasil zona hambat yang telah diukur dan menunjukkan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* memiliki zona hambat yang lebih besar dibanding terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Hasil tersebut terlihat perbedaan zona hambat pada nilai daya hambat terbesar

pada formulasi III dengan konsentrasi 65% sedangkan ekstrak dengan daya hambat terkecil adalah kelompok formulasi I konsentrasi 35%, oleh sebab itu pengaruh besarnya konsentrasi ekstrak sangat berpengaruh. semakin rendah konsentrasi ekstrak yang diuji maka diameter daya hambat yang pengaruh ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri akan semakin tinggi.

Tabel 4. pH selama 4 minggu penyimpanan

Formula	Waktu (Minggu)	pH		
		0°C	4°C	25°C
I (35%)	0	5,34	5,31	5,3
	1	5,49	5,5	5,53
	2	5,54	5,53	5,46
	3	5,6	5,58	5,57
	4	5,62	5,6	5,59
II (50%)	0	5,34	5,35	5,3
	1	5,53	5,54	5,45
	2	5,58	5,59	5,5
	3	5,62	5,65	5,53
	4	5,85	5,85	5,58
III (65%)	0	5,37	5,3	5,17
	1	5,60	5,57	5,21
	2	5,64	5,62	5,23
	3	5,67	5,65	5,25
	4	5,87	5,74	5,26

Pada tabel 4 hasil stabilitas gel pada nilai pH gel masih memenuhi persyaratan karena nilai pH tersebut masih masuk ke

dalam rentang pH normal kulit manusia yaitu sebesar 4,50–6,5.

Tabel 5. Hasil uji iritasi

Subjek	Formula I	Formula II	Formula III
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	-	-	-
18	-	-	-
19	-	-	-
20	-	-	-

Keterangan:

- (negatif) = tidak terjadi iritasi
- + (positif) = terjadi iritasi

KESIMPULAN

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh sebagai bahan aktif maka daya hambat atau zona hambat yang dioleskan pada lempeng agar akan semakin besar. Uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan tujuan untuk membandingkan khasiat dari Daun Belimbing wuluh sebagai antibakteri dengan

antibiotik salep kulit gentamicin 0,1% sebagai kontrol positif. Hasil uji zona hambat pada bakteri *S. aureus* lebih besar daripada *P. aeruginosa* sehingga dapat di definisikan bahan aktif dari ekstrak Daun Belimbing Wuluh mempunyai aktivitas lebih baik dalam menghambat bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *P. aeruginosa*.

SARAN

Diharapkan pada penelitian selanjutnya tentang antibakteri dapat digunakan bahan alam lainnya yang mempunyai khasiat sebagai antibakteri dan menggunakan metode uji aktivitas antibakteri yang lain seperti metode difusi cakram dan formula dapat dibuat ke bentuk lainnya seperti salep, lotion, krim dan pasta.

DAFTAR PUSTAKA

- Ricko. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Secara In Vitro Dengan Metode Difusi Agar Terhadap Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif. Thesis Magister Fakultas Farmasi. Jakarta : Universitas Pancasila.
- Direktorat Jenderal Pemeriksaan Obat dan Makanan. 1985. Formularium Kosmetika Indonesia: Penerbit Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. (Buku/monograph)
- Draelos, dan Lauren, T. 2006. *Cosmetic Formulation of Skin Care Product*, 362. New York: Taylor and Francis Group. (Buku/monograph)
- Faharani. 2009. Uji Aktifitas Antibakteri Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) Terhadap Bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara Bioautografi, Jakarta: FMIPA UI, Thesis
- Gobel, R. 2008. Mikrobiologi Umum Dalam Praktek. Makasar : Penerbit Universitas Hasanuddin. (Buku/monograph).
- Hayati, E.K., Fasyah, G.A dan Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.). Jurnal Kimia. 4 (2) : 193-200.
- Hertiani, Palupi, Sanliferianti, dan Nurwindasari. 2003. Uji Potensi Antimikroba terhadap *S. aureus*, *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Candida albicans* dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional untuk Penyakit Infeksi, Jurnal Pharmacon UMS Surakarta, 4(2): 50 – 67.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., dan Adelberg, E. A. 1991. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (*Review of Medical Microbiology*), edisi 16, 239-244. Jakarta:EGC Penerbit Buku Kedokteran
- Pramono, S. 2002. Kontribusi bahan obat alam dalam mengatasi krisis bahan obat di Indonesia, Jurnal Bahan Alam Indonesia, 1(1): 18-20.
- Suardi M, Armenia dan Anita M. 2008. Formulasi dan Uji Klinik Gel Anti Jerawat Benzoiil Peroksida HPMC.

Fakultas Farmasi, Udayana, Denpasar
Bali: Universitas Udayana, Thesis.

Sukadana, I.M. 2007. Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). Universitas Udayana Jurnal Bahan Alam Indonesia, 1(1): 35 - 45.

Septiani, S., N. Wathoni, dan S. R. Mita. 2011. Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* Linn.). Jurnal Unpad. 1(1): 4-24.