

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP BAKTERI PATOGEN PANGAN

[ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BILIMBI LEAVES (*Averrhoa bilimbi* L.) EXTRACTS TOWARDS PATHOGENIC BACTERIA]

Lucia Crysanthi Soedirga* dan Adolf J.N. Parhusip
Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan, Jl.MH.Thamrin Boulevard 1100
Lippo Village, Tangerang

*Korespondensi penulis : lucia.soedirga@uph.edu

ABSTRACT

Averrhoa bilimbi leaves was used and extracted with maceration method by using three types of solvents based on its polarity, i.e ethanol (polar), ethyl acetate (semi polar), and hexane (nonpolar). Moreover, different concentration (5,10,15,20, and 25%) of bilimbi leaves extract were also observed in this study by using well diffusion method in order to determine which solvent and extract concentration gave the best antibacterial activity against *B. cereus*, *S. aureus*, *Pseudomonas* sp., and *Enterobacter* sp. The result showed that ethanol was the best solvent that can be used for the extraction of bilimbi leaves. In addition, 20% of ethanol extract of bilimbi leaves able to inhibit the activity of *B. cereus* and *Enterobacter* sp. with the inhibition diameter 11.43 mm and 6.32 mm, respectively. Meanwhile, activity of *S. aureus* and *Pseudomonas* sp. could inhibit with 25% of extract with the inhibition diameter 8.8 and 4.94 mm.

Keywords : Antibacterial, bilimbi leaves, maceration, pathogenic bacteria, well diffusion

ABSTRAK

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) pada penelitian ini diekstrak dengan menggunakan metode maserasi dan tiga jenis pelarut berdasarkan tingkat polaritasnya, yakni etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan heksana (non polar). Selain itu, ekstrak daun belimbing wuluh dibuat dalam berbagai konsentrasi (5,10,15,20, dan 25%) untuk mengetahui pelarut dan konsentrasi terbaik yang dapat memberikan penghambatan terhadap bakteri patogen pangan. Aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut etanol merupakan pelarut terbaik untuk menghasilkan ekstrak daun belimbing wuluh yang mampu menghambat aktivitas *B. cereus*, *S.aureus*, *Pseudomonas* sp., dan *Enterobacter* sp. Selan itu, konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh sebesar 20% mampu memberikan penghambatan terbaik terhadap *B. cereus* dan *Enterobacter* sp., yakni masing-masing 11,43 mm dan 6,32 mm. Sebanyak 25% konsentrasi ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menghambat aktivitas dari *S.aureus* dan *Pseudomonas* sp., yakni masing-masing 8,8 mm dan 4,94 mm.

Kata kunci : Antibakteri, bakteri patogen, daun belimbing wuluh, difusi sumur, maserasi

PENDAHULUAN

Salah satu kerusakan yang terjadi pada bahan pangan adalah kerusakan

mikrobiologis yang dapat disebabkan oleh keberadaan bakteri perusak dan bakteri patogen. Kerusakan yang disebabkan oleh

bakteri patogen bersifat tidak kasat mata, sedangkan kerusakan yang disebabkan oleh bakteri perusak umumnya bersifat kasat mata, seperti terbentuk gas, perubahan warna, terbentuk lendir, dan perubahan aroma (Gram *et al.*, 2002).. Bahan pangan dapat bertindak sebagai perantara bagi pertumbuhan mikroorganisme yang bersifat patogenik terhadap manusia oleh sebab itu dalam proses pengolahan sering ditambahkan bahan-bahan kimia tertentu untuk mencegah pertumbuhannya sehingga dapat memperpanjang umur simpannya atau dikenal sebagai pengawet (Russell dan Gould, 2003).

Penggunaan pengawet yang berasal dari bahan kimia perlahan-lahan mulai digantikan dengan bahan lain yang bersifat alami, salah satu contohnya adalah belimbing wuluh. Daun belimbing wuluh telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, seperti *B. cereus*, *S. aureus*, *Citrobacter freundii* dan *Aeromonas hydrophila* pada ekstraksi menggunakan pelarut air dan kloroform (Zakaria *et al.*, 2008).

Hal ini mendorong dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mempelajari aktivitas antibakteri dari daun belimbing wuluh. Dalam penelitian ini, daun belimbing

wuluh akan diekstrak dengan berbagai jenis pelarut berdasarkan polaritasnya, yakni etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan heksana (non polar). Selain itu, ekstrak akan dibuat dalam berbagai konsentrasi (5,10,15,20, dan 25%) untuk menentukan pelarut dan konsentrasi terbaik yang dapat memberikan penghambatan terhadap aktivitas bakteri patogen pangan, seperti *B. cereus*, *S. aureus*, *Pseudomonas* sp., dan *Enterobacter* sp.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diperoleh dari Balitro (Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik), kultur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter* sp, dan *Pseudomonas* sp yang diperoleh dari SEAFSAT (*South East Asian Food And Agricultural Science And Technology*) IPB, media NA (*Nutrient Agar, Merck*), media NB (*Nutrient Broth, Merck*), etanol teknis 70% (Sigma Aldrich), etil asetat teknis (Sigma Aldrich), n-heksana teknis (Sigma Aldrich), aluminium foil, kertas saring, dan akuades.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengering kabinet (Wangdi W) *incubator shaker* (Heidolph

Unimax), *rotary evaporator* (BUCHI Rotavapor R-210), *laminar air flow* (Bench), timbangan analitik dan timbangan meja (Sartorius BP 210S), mikropipet (Pipetman), tip, inkubator (Memmert), blender (Miyako), autoklaf (Hirayama), *vortex* (Thermolyne), pompa vakum (BUCHI Vacuum Pump V-700), corong *buchner*, cawan Petri, Erlenmeyer (Iwaki), jangka sorong, *colony counter* (Stuart scientific), ayakan Tyler (Restch).

Metode Penelitian

Persiapan Bahan dan Proses Ekstraksi

Daun belimbing wuluh dikeringkan dengan menggunakan pengering kabinet pada suhu 60°C selama 6 jam. Daun belimbing yang sudah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi bubuk lalu diekstrak dengan tiga jenis pelarut yaitu etanol (polar), etil asetat (semi polar), dan heksana (non polar) pada perbandingan 1:5 (w/v). Proses pengecilan ukuran pada sampel dilakukan untuk mempermudah saat proses ekstraksi agar kontak antara sampel dengan pelarut semakin besar (Sahgal *et al.*, 2009). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan *shaker incubator* dan filtrat yang didapat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak yang diperoleh dimasukkan

dalam botol gelap dan disimpan dalam *refrigerator*.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumur yang dimodifikasi dari Jagessar *et al.*, (2008) dengan modifikasi. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri diinokulasikan ke dalam media NA kemudian 60µl ekstrak dengan konsentrasi 5,10,15,20,25 % dimasukkan ke dalam sumur dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter penghambatan ditandai adanya areal bening dan dihitung dengan menggunakan jangka sorong.

Penentuan MIC dan MBC

Nilai MIC ditentukan dengan metode Bloomfield yang dimodifikasi dari Andrews (2001) yakni membuat kurva regresi linier antara sumbu x ($\ln m_0 = \ln$ konsentrasi ekstrak) dan sumbu y ($z^2 =$ nilai kuadrat zona penghambatan). Kurva regresi linier yang berpotongan dengan sumbu x merupakan nilai m_t . Nilai MIC adalah $0.25 \times m_t$. Nilai MBC adalah $4 \times$ nilai MIC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut Okiei *et al.* (2011) senyawa polar akan lebih mudah larut pada pelarut polar dan senyawa non polar akan lebih mudah larut dalam pelarut non polar. Nilai

rendemen pada pelarut etanol yang tinggi (10,74%) menandakan bahwa senyawa polar pada ekstrak daun belimbing wuluh lebih banyak dibandingkan senyawa non polarnya (Tabel 1).

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun belimbing wuluh

Jenis ekstrak	Rendemen (%)
Etanol	10,74
Etil asetat	3,92
Heksana	1,98

Tabel 2. Komponen fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh

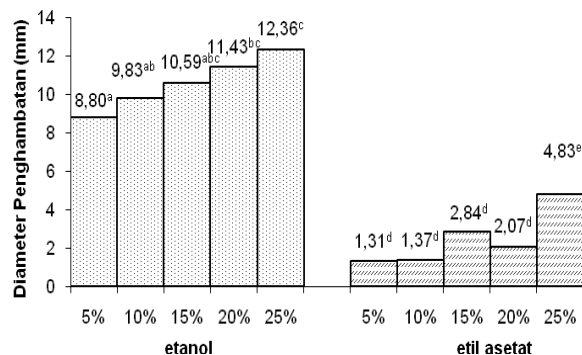
Komponen fitokimia	Ekstrak etanol	Ekstrak etil asetat	Ekstrak heksana
Alkaloid	+	+	+
Saponin	+	+	-
Tanin	+	+	-
Fenolik	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Triterpenoid	+	+	+
Steroid	-	-	+
Glikosida	+	+	+

Keterangan: - : negatif (tidak terdeteksi)
+ : positif

Tabel 2 menunjukkan hasil uji kualitatif fitokimia yang terdeteksi pada ekstrak daun belimbing wuluh. Menurut Zakaria *et al.* (2008), komponen yang bertindak sebagai antibakteri pada ekstrak daun belimbing wuluh adalah komponen

flavonoid, di antaranya luteolin dan apigenin (Cushine dan Lamb, 2005). Selain komponen flavonoid, komponen lain yang terdeteksi adalah komponen tanin dan fenolik. Menurut Nychas dan Tassou (2000), komponen fenolik merupakan salah satu antimikroba alami pada tanaman.

Hasil pengujian statistik menunjukkan bahwa pelarut dan konsentrasi ekstrak mempengaruhi diameter penghambatan bakteri uji dan terdapat interaksi diantara kedua faktor tersebut, seperti terlihat pada Gambar 1.



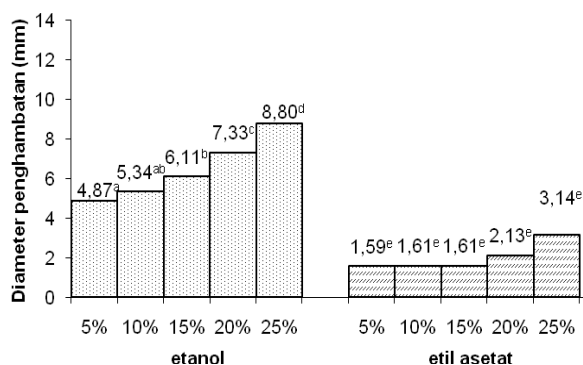
Keterangan: Notasi *superscript* yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada α 0,05.

Gambar 1. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan etil asetat daun belimbing wuluh terhadap *B. cereus*

Pada seluruh konsentrasi ekstrak, pelarut etanol memberikan diameter penghambatan yang lebih besar dibandingkan pelarut etil asetat dalam menghambat *B.cereus* (Gambar 1) sehingga

dipilih pelarut etanol. Pada pengujian statistik untuk pelarut etanol, konsentrasi 5% berbeda nyata dengan konsentrasi 20% dan 25%, sedangkan konsentrasi 20% dan 25% tidak berbeda nyata sehingga dipilih konsentrasi 20%.

Pada seluruh konsentrasi ekstrak, pelarut etanol memberikan diameter penghambatan yang lebih besar (4.87 mm sampai dengan 8.80 mm) dibandingkan pelarut etil asetat (1.59 mm sampai dengan 3.14 mm) (Gambar 2) dalam menghambat *S.aureus* sehingga dipilih pelarut etanol.

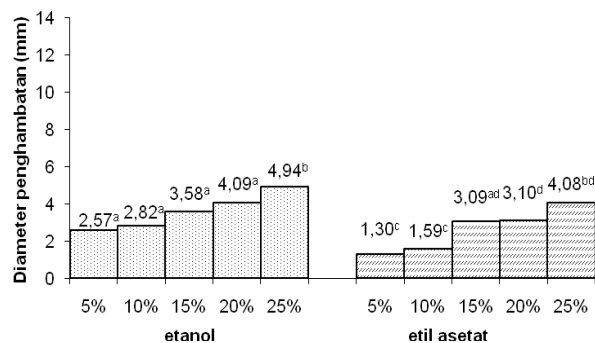


Keterangan: Notasi *superscript* yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada α 0,05.

Gambar 2. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan etil asetat daun belimbing wuluh terhadap *S. aureus*

Pada pelarut terpilih yakni pelarut etanol, konsentrasi ekstrak 5% berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak 15%, 20%, dan 25%, namun konsentrasi ekstrak 5% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi

10%. Konsentrasi 10% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 15% sehingga dipilih konsentrasi 25%. Ekstrak etanol dari daun salam serta ekstrak etanol dan etil asetat (1:1) daun pandan diketahui juga dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* sebesar 5.0 mm/mg ekstrak daun salam dan 3.2 mm/mg ekstrak daun pandan (Murhadi *et al.*, 2007).



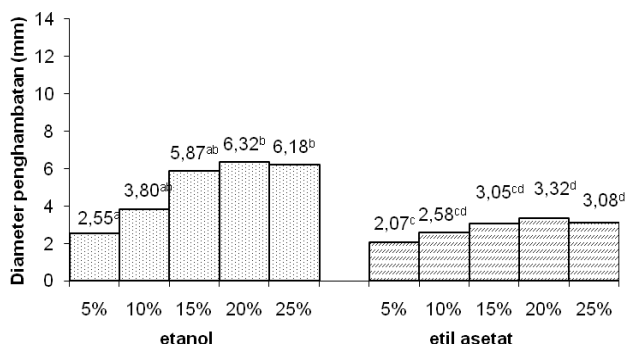
Keterangan: Notasi *superscript* yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada α 0,05

Gambar 3. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan etil asetat daun belimbing wuluh terhadap *Pseudomonas sp*

Pada Gambar 3 terlihat bahwa pelarut etanol berbeda nyata dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 20%, yakni pelarut etanol memberikan diameter penghambatan yang lebih besar daripada etil asetat dalam menghambat *Pseudomonas sp.*, sehingga dipilih pelarut etanol. Pada pelarut etanol, konsentrasi ekstrak 5% tidak berbeda nyata

dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20% tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 25% sehingga dipilih konsentrasi 25 %.

Pelarut etanol memberikan diameter penghambatan yang lebih besar, yakni pada kisaran 2.55 mm sampai dengan 6.18 mm dibandingkan pada pelarut etil asetat yang hanya memberikan diameter penghambatan pada kisaran 2.07 mm sampai dengan 3.08 mm (Gambar 4), sehingga dipilih etanol sebagai pelarut terpilih dalam menghambat *Enterobacter* sp. Pada pelarut etanol, konsentrasi ekstrak 5% berbeda nyata dengan konsentrasi ekstrak 20% dan 25%, tetapi konsentrasi 20% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 25% sehingga dipilih konsentrasi 20%.



Keterangan: Notasi *superscript* yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada α 0,05

Gambar 4. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan etil asetat daun belimbing wuluh terhadap *Enterobacter* sp

Berdasarkan pengujian antibakteri, ekstrak terpilih yang dapat memberikan penghambatan terhadap seluruh bakteri uji adalah ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Selanjutnya, data penghambatan dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh ini akan digunakan untuk menghitung MIC dan MBC. MIC adalah konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan MBC adalah konsentrasi terkecil ekstrak yang dapat membunuh bakteri. Nilai MIC dan MBC ekstrak etanol daun belimbing wuluh ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai MIC dan MBC ekstrak etanol daun belimbing wuluh

Bakteri uji	MIC (%)	MBC (%)
<i>B.cereus</i>	0.25	1.00
<i>S.aureus</i>	0.75	2.99
<i>Pseudomonas</i> sp	0.85	3.39
<i>Enterobacter</i> sp	0.56	2.24

Berdasarkan Tabel 3, secara umum terlihat bahwa nilai MIC dan MBC bakteri Gram positif lebih kecil dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal ini menandakan bahwa konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif lebih besar karena struktur bakteri Gram negatif yang memiliki membran luar sehingga lebih sulit ditembus

oleh senyawa antimikroba (Madigan *et al.*, 2006).

KESIMPULAN

Etanol merupakan pelarut terbaik dalam menghasilkan ekstrak daun belimbing wuluh. Selain itu, konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh yang dibutuhkan untuk menghambat aktivitas *B. cereus* dan *Enterobacter* sp. adalah 20%; sedangkan 25% konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh dibutuhkan untuk dapat menghambat aktivitas *S.aureus* dan *Enterobacter* sp.

SARAN

Ekstrak daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas yang cukup baik dalam menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen pangan. Namun, stabilitasnya terhadap beberapa kondisi seperti pH, penambahan garam, dan pemanasan belum diketahui sehingga pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian mengenai stabilitas ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrews, J. M. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 48(S1) : 5-16.
- Cushnie, T. T., and Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 26(5): 343-356.
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J. B., Christensen, A. B., and Givskov, M. 2002. Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 78(1-2) : 79-97.
- Jagessar, R. C., Mars, A., and Gomes, G. 2008. Selective Antimicrobial properties of *Phyllanthus acidus* leaf extract against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using Stokes Disc diffusion, Well diffusion, Streak plate and a dilution method. *Nature and Science* 6(2): 24-38.
- Murhadi, Suharyono, A.S., dan Susilawati. 2007. Aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Syzygium polyanta*) dan daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 18 (1): 17-24.
- Madigan, M.T., Martinko, H.M., dan Parker, J. 2006. *Brock Biology of Microorganisms*. Southern Illinois: Prentice Hall.
- Nychas, G.J.E and Tassou, C.C. 2000. Traditional Preservatives-Oil and Spices. In : R.K. Robinson, C.A. Batt, P.D. Patel. *Encyclopedia of Food Microbiology Volume 1*. London: Academic Press.
- Okiei, W. O., Ogunlesi, M., Osibote, E. A., Binutu, M. K., and Ademoye, M. A. 2011. Comparative studies of the antimicrobial activity of components of different polarities from the leaves of *Nauclea latifolia*. *Research Journal of Medicinal Plant* 5(3) :321-329

Russell, N. J., and Gould, G. W. (Eds.). 2003. *Food preservatives*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Sahgal, G., Sreeramanan, S., Sasidhran, S., Xavier, R., and Ong, M.T. 2010. Screening selected medicinal plants for antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Advances in Natural and Applied Sciences*, 3(3): 330-338.

Zakaria, Z. A., Zaiton, H., Henie, E. F. P., Jais, A. M., and Zainuddin, E. N. 2007. In vitro antibacterial activity of *Averrhoa bilimbi* L. leaves and fruits extracts. *International Journal of Tropical Medicine* 2(3): 96-100.