

UJI DAYA HAMBAT INFUS DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*

Mardiah¹⁾

¹⁾Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar
Alamat Korepondensi: mardiah.diomks77@gmail.com

Abstrak

Staphylococcus aureus adalah bakteri kokus gram positif yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Infeksi *Staphylococcus aureus* akan menyebabkan penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, pembentukan abses, dan furunkel ringan pada kulit. Contohnya ialah jerawat pada wajah. Telah dilakukan penelitian uji daya hambat metode difusi agar berlapis yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri infus daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan 4 konsentrasi infus daun belimbing wuluh, yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%, serta larutan pembanding kontrol positif (Tetrasiklin 30 bpj) dan larutan pembanding kontrol negatif (aquadest steril) dengan masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infus daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena tidak terbentuk zona hambat disekitar pencadangan pada media MHA.

Kata Kunci: Daun Belimbing Wuluh, Metode Difusi Agar Berlapis, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan tumbuhan obat dengan keanekaragaman hayati tertinggi ke-2 di dunia setelah Brazili. Indonesia memiliki berbagai jenis tumbuhan yang jumlahnya mencapai 28.000 jenis dan telah diketahui 7.000 jenis bermanfaat sebagai obat-obatan (Pramono, 2002).

Terdapat 20 jenis tanaman yang dianjurkan oleh Departemen Kesehatan (Depkes) sebagai tanaman obat keluarga (toga). Selain jambu biji, jahe, kencur, dan bawang, belimbing wuluh juga termasuk salah satu dari 20 macam obat terpenting yang perlu ada dalam pekarangan rumah (Sarwono, 2001). Salah satu tumbuhan khas Indonesia yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*).

Selain digunakan oleh ibu-ibu rumah tangga sebagai bumbu ikan, penyedap makanan pengganti cuka, dan penghilang noda-noda pada pakaian, belimbing wuluh juga berkhasiat menyembuhkan beberapa penyakit pada manusia. Dalam beberapa literatur disebutkan bahwa belimbing wuluh

berkhasiat untuk menurunkan kadar kolesterol, mencegah kanker, dan memperlancar pencernaan. Bahkan belimbing wuluh sering digunakan sebagai obat encok, hipertensi, batuk, gondongan, rematik, gusi berdarah, sakit gigi berlubang, sariawan, panu, dan menghilangkan noda-noda atau jerawat di wajah (Rukmana, 1996).

Kandungan kimia yang terdapat pada belimbing wuluh adalah asam sitrat, asam askorbat, saponin, tanin, glikosida, flavanoid, dan polifenol (Mulyani dan Gunawan, 2001). Belimbing wuluh juga mengandung senyawa kimia asam oksalat dan kalium. Di samping itu, daun belimbing wuluh juga mengandung ekstrak untuk melawan *Staphylococcus* (Thomas, 1998).

Bakteri *Staphylococcus* adalah kuman yang sering ditemukan sebagai flora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Salah satu spesiesnya adalah *Staphylococcus aureus*. Setiap jaringan maupun alat tubuh yang diinfeksi oleh *Staphylococcus aureus* akan menyebabkan penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses.

Infeksinya dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu piemia yang fatal (Chatib, 1994). Furunkel yang ringan pada kulit bisa berupa jerawat pada wajah.

Salah satu pengobatan tradisional untuk mengobati jerawat ialah dengan menggunakan daun belimbing wuluh, caranya ialah: daun belimbing wuluh ditumbuk halus, kemudian ditambahkan garam secukupnya. Campuran kedua bahan tersebut kemudian digunakan sebagai bedak pada bagian wajah yang berjerawat (Thomas, 1998). Penelitian uji sensitivitas ekstrak daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri telah banyak dilakukan sebelumnya. Penelitian-penelitian tersebut dilakukan dengan menggunakan proses ekstraksi dengan pelarut-pelarut organik, seperti pelarut etanol dan methanol.

Penelitian uji sensitivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebelumnya telah dilakukan oleh Siti Nur Aida (2012), didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat ekstrak etanol daun belimbing wuluh konsentrasi 1mg/sumuran sebesar 9,2 mm, 2 mg/sumuran sebesar 10,3 mm, dan 4 mg/sumuran sebesar 10,3 mm.

Mengingat adanya potensi dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai antibakteri, maka perlu dilakukan penelitian uji daya hambat bakteri menggunakan sampel yang tidak diekstraksi dengan pelarut organik, melainkan dengan cara lain untuk memperoleh ekstrak, yaitu dengan cara direbus (infus).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah penangas air, beaker glass, tabung reaksi, sendok tanduk, corong steril, bunsen, batang pengaduk, timbangan analitik, cawan petri, pencadangan, autoklaf, labu ukur, inkubator, lemari es, mistar geser, ose, rak tabung, pinset, pipet volume, kain kasa steril, thermometer, dan oven.

Bahan yang digunakan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*), koloni *Staphylococcus aureus*, Larutan

Mc Farland 0,5%, Media NA, media MHA (Mueller Hinton Agar), NaCl fisiologis, Aquadest, antibiotik tetrasiklin, dan kapas.

Prosedur Penelitian

Pembuatan infus

Sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) diambil dari pohon di pagi hari sekitar jam 07.00-09.00 WITA dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan dipotong kecil-kecil.

Infus adalah cairan yang dibuat dengan cara mengekstrak simplisia dengan air pada suhu 90°C dalam 15 menit. Pembuatan infus daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 100% sesuai tahap: 200 gr daun ditimbang dengan timbangan analitik kemudian diletakkan pada panci infus, lalu ditambahkan 500 ml aquadest, kemudian dipanaskan 15 menit pada suhu 90°C, setelah itu larutan disaring menggunakan kain flanel steril.

Konsentrasi infusium 100% selanjutnya, diencerkan menggunakan aquadest steril sesuai konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%.

Pembuatan larutan pembeding kontrol negatif (aquadest steril)

Larutan pembeding kontrol negatif aquadest steril dibuat dengan cara sebagai berikut: dimasukkan 100 ml aquadest kedalam erlenmeyer, ditutup dengan menggunakan aluminium foil dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan larutan pembeding kontrol positif (tetrasiklin)

Larutan kontrol positif (tetrasiklin) dibuat dalam 30 bpj dengan cara sebagai berikut: ditimbang 50 mg tetrasiklin dan dilarutkan dengan 25 ml aquadest steril (100 bpj) sebagai larutan stok I, dipipet 2,5 ml larutan stok I dan dicukupkan volumenya dengan aquadest hingga 25 ml (50 bpj) sebagai larutan stok II, dan dipipet 7,5 ml larutan stok II dan dicukupkan volumenya dengan aquadest hingga 25 ml (30 bpj).

Pembuatan media NA (Nutrient Agar)

Media NA sebanyak 0,56 gr dibuat dalam 20 ml aquadest, diatur PH 7,0, larutan dihomogenkan menggunakan hot

plate pada suhu $\pm 100^{\circ}\text{C}$, kemudian disterilisasi menggunakan autoclave, selanjutnya larutan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga membeku.

Pembuatan media MHA (Mueller Hilton Agar)

Media MHA sebanyak 4,56 gr dibuat dalam 120 ml aquadest, diatur PH 7,0, larutan dihomogenkan menggunakan hot plate pada suhu $\pm 100^{\circ}\text{C}$, larutan kemudian dipipet 20 ml, dan dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga membeku.

Sebanyak 20 ml MHA cair ditambahkan dengan 20 μl bakteri uji *Staphylococcus aureus*, dihomogenkan dan dituang ke dalam cawan petri secara merata.

Pembuatan suspensi uji bakteri

Bakteri yang telah diremajakan pada media NA diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , diambil 1 mata ose lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi larutan NaCl 0,9% sebanyak 5 ml, dihomogenkan. Suspensi uji awal dibuat setara kekeruhan 0,5 Mc Farland (kekeruhan campuran Barium sulfat dan HCl) atau sebanding dengan jumlah bakteri 1.10^8 CFU/ml (Colony Forming Units) atau 250-300 koloni dalam media padat.

Pengujian daya hambat infus dengan metode difusi agar berlapis

Media MHA dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 20 ml, dibiarkan membeku, sebagai base layer. Selanjutnya, dimasukkan suspensi bakteri uji sebanyak 20 μl ke dalam media MHA cair dan dituang diatas base layer, dibiarkan menjadi setengah padat, sebagai lapisan pembenihan (seed layer).

Pencadang berukuran ± 8 mm diletakkan diatas seed layer dengan menggunakan pinset, diukur jarak antar pencadang dalam satu cawan petri $\pm 2-3$ cm. Pengujian aktivitas antibakteri selanjutnya dilakukan dengan pencadang diisi dengan masing-masing konsentrasi infus daun belimbing wuluh, yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%, diisi juga dengan larutan pembanding kontrol positif (Tetrasiklin) dan larutan pembanding

kontrol negatif (Aquadest steril).

Selanjutnya, diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C dan diukur daerah zona hambatan disekitar pencadang dengan menggunakan mistar geser. Pengujian diulang sebanyak 3 kali.

Analisis Data

Data dari penelitian ini akan diolah secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian berupa pengukuran diameter zona hambat infus daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar dengan masa inkubasi 24 jam. Hasil pengukuran diameter zona hambat daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 1. Diameter Zona Hamba Infus Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Antibakteri	Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Bening (mm)
Infus Daun	20%	0.0
Belimbing Wuluh	40%	0.0
	60%	0.0
	80%	0.0
Tetracycline	30 bpj	25

Penelitian uji daya hambat infus daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dilakukan secara eksperimental dengan menggunakan metode difusi agar berlapis yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan infus daun dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Dalam penelitian ini, digunakan infus daun belimbing wuluh, karena daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) diketahui mengandung senyawa-senyawa fenol yaitu flavanoid, tanin, dan triterpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Contohnya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini

merupakan bakteri kokus gram positif yang sering ditemukan sebagai bakteri flora normal pada kulit dan selaput lendir manusia. Infeksi *Staphylococcus aureus* akan menyebabkan penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, pembentukan abses, dan furunkel ringan pada kulit. Contohnya ialah jerawat pada wajah. Jerawat pada wajah ini dapat diobati dengan menggunakan daun belimbing wuluh yang telah dihaluskan.

Pengujian daya hambat infus daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah infus daun belimbing wuluh. Infus merupakan salah satu proses penyarian simplisia nabati dengan menggunakan aquadest sebagai pelarut pada suhu 90°C selama 15 menit. Proses pembuatan infus ini diawali dengan menimbang daun belimbing wuluh yang telah dicuci dan dipotong kecil-kecil sebanyak 200 gram kemudian ditambahkan dengan 500 ml aquadest steril. Dipanaskan diatas penangas hingga mencapai suhu 90°C dan suhu ini dijaga tetap konstan selama 15 menit. Setelah proses tersebut, filtrat atau cairan infus kemudian dipisahkan dari ampas daun belimbing wuluh dengan cara cairan dimasukan kedalam wadah yang steril. Infus daun belimbing wuluh ini kemudian dibagi menjadi 4 konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah tetrasiklin HCl dibuat dalam 30 bpj. Hal ini didasarkan bahwa antibiotik ini diketahui dapat menghambat pertumbuhan sebagian besar bakteri gram positif maupun gram negatif. Kontrol positif juga digunakan untuk menguji apakah kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian masih layak untuk di uji atau tidak. Sedangkan kontrol negatif dalam penelitian ini, larutan perbandingan yang digunakan adalah aquadest yang telah disterilkan.

Dalam penelitian ini, metode yang digunakan yaitu metode difusi agar

berlapis yang merupakan modifikasi dari metode difusi Kirby Bauer. Perbedaannya adalah pada cara ini menggunakan dua lapis agar. Lapis pertama (*Base Layer*) tidak mengandung mikroba, sedangkan lapis kedua (*Seed Layer*) mengandung mikroba dan menggunakan pencadang berdiameter 8 mm. Pada proses pengujiannya media yang digunakan adalah media MHA (Mueller Hilton Agar). Lapisan Base Layer dibuat dengan cara menuang 20 ml media MHA cair secara aseptik kedalam cawan petri dan dibiarkan membeku, kemudian lapisan Seed Layer dibuat dengan cara memasukkan 20µl suspensi bakteri kedalam 10 ml MHA cair dalam tabung kemudian dituang di atas lapisan Base Layer yang telah dibekukan. Setelah itu, diletakkan 6 pencadang diatas Seed Layer, masing-masing untuk infus daun dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, larutan perbandingan kontrol positif, dan kontrol negatif. Setelah lapisan beku, kemudian dimasukkan masing-masing 200µl sampel serta kontrol positif tetrasiklin dan kontrol negatif aquadest steril ke dalam pencadang.

Setelah dilakukan pengujian pada media MHA, kemudian dilakukan inkubasi selama 1 x 24 jam pada inkubator pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi, dilakukan pembacaan hasil, yaitu pengukuran daerah zona hambatan yang terbentuk disekitar pencadang dengan menggunakan mistar geser. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infus daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dapat dilihat dengan tidak terbentuknya zona hambatan disekitar pencadang yang berisi masing-masing konsentrasi infus daun belimbing wuluh, yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%, diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu sebesar 0,0 mm. Pada kontrol negatif juga tidak terbentuk zona hambat disekitar pencadang sedangkan pada kontrol positif tetrasiklin, terbentuk zona hambatan dengan diameter rata-rata 25,0 mm.

Tidak terbentuknya zona hambat disekitar pencadang pada kontrol negatif

dan terbentuknya zona hambat berdiameter rata-rata 25,0 mm pada kontrol positif menandakan bahwa prosedur penelitian telah dilakukan dengan sebaik-baiknya dan dapat dilihat bahwa infus daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Meskipun telah diketahui bahwa di dalam daun belimbing wuluh terkandung senyawa-senyawa fenol yang bersifat antimikroba, hasil penelitian uji daya hambat infus daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa proses penyarian dengan cara infus tidak efektif dalam menghasilkan ekstrak yang kaya akan zat-zat aktif antimikroba dalam suatu simplisia nabati.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa infus daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* karena tidak terbentuk zona hambatan disekitar pencadang pada media pengujian.

SARAN

1. Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk mengembangkan penelitian bukan hanya menggunakan proses ekstraksi infus tetapi menggunakan proses ekstraksi lain dengan pelarut-pelarut organik.
2. Diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk mengembangkan penelitian terhadap identifikasi senyawa yang terkandung dalam daun belimbing wuluh yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Amriani Arifin, N. 2011. *Uji Daya Hambat Infus Daun Jambu Biji (Psidium guajava Linn) Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli* (Karya Tulis Ilmiah). Makassar: Akademi Analisis Kesehatan Muhammadiyah Makassar.
- Chatib, U. W. 1994. *Buku Ajar*

Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta: Binarupa Aksara.

- Dito Chan, 2010. *Staphylococcus aureus*.(online). Available from: <http://www.scribd.com/>
- Dwicahyono, A. 200 *Kemampuan Perasan daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Lactobacillus sp* (Skripsi). Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme*, Edisi 1. Bandung: Yrama Widya.
- Irianto, K. 2013. *Mikrobiologi Medis Pencegahan Pangan Lingkungan*. Bandung: Alfabeta.
- Jawetz, et al. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Kathleen B. Dan Stephen G. 2007. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi Edisi Ketiga*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- La Imala, M. 2014. *Uji Resistensi Staphylococcus aureus Terhadap Antibiotik Amoxicillin, Tetracyclin dan Propolis* (Karya Tulis Ilmiah). Makassar: Akademi Analisis Kesehatan Muhammadiyah Makassar.
- Mulyani, S. Gunawan, D. 2001. *Ramuan Tradisional Untuk Penderita Asma*. Jakarta: Gramedia.
- Nur Aida, S. 2012. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh Terhadap Staphylococcus aureus* (Skripsi). Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi; Panduan Mahasiswa Farmasi & Keperawatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahmat, R. 1996. *Tabulampot Belimbing*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Syah, A. 2011. *Obat Herbal Luar Biasa!*. CV Surabaya: Pustaka Agung Harapan.
- Thomas, A. N. S. 1998. *Tanaman Obat*

- Tradisional*. Surabaya: Penerbit Lentera
- Tsilatsi, A. 2013. *Uji Resistensi Staphylococcus aureus Terhadap Antibiotika Amoksilin, Eritromisin, Sefadroksil dan Kloramfenikol* (Karya Tulis Ilmiah). Makassar: Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar
- Yuwono, 2012. *Staphylococcus aureus*. Bandung: Universitas Padjadjaran.
- Syarif, A. et al. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: Gaya Baru.