

**SENYAWA ANTIBAKTERI GOLONGAN FLAVONOID DARI
BUAH BELIMBING MANIS (*Averrhoa carambola* Linn.L)**

I M. Sukadana

*Kelompok Penelitian Kimia Organik Bahan Alam
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi senyawa aktif antibakteri dari buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn). Sebanyak 140,56 g ekstrak kental methanol diperoleh dari 10 kg buah segar belimbing manis. Ekstrak metanol tersebut dilarutkan ke dalam campuran metanol-air (7:3) selanjutnya dipartisi berturut-turut dengan pelarut n-heksana dan kloroform, sehingga menghasilkan berturut-turut ekstrak n-heksana 0,10 g, ekstrak kloroform 0,07 g dan ekstrak air sebanyak 48,01 g. Uji fitokimia flavonoid dari semua ekstrak kental yang diperoleh menunjukkan bahwa air yang paling positif flavonoid.

Hasil pemisahan dengan kromatografi kolom terhadap ekstrak air diperoleh fraksi F_B positif flavonoid dengan berat sekitar 0,2027 g yang berwarna orange. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat (fraksi F_B) merupakan senyawa golongan katekin dengan kemungkinan memiliki gugus hidroksil pada C-3, C-7, dan C-4', serta mempunyai gugus fungsi -OH, C-H aromatik, C-H alifatik, C=C aromatik, C-O alkohol dan tidak mengandung gugus karbonil C=O. Isolate dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada 100 ppm dan *S. aureus* pada 500 ppm.

Kata kunci : *Averrhoa carambola* Linn ., flavonoid, antibakteri, isolasi, identifikasi

ABSTRACT

Isolation and identification of active antibacterial compounds from star fruit (*Averrhoa carambola* Linn). has been carried out. As much as 140.56 g of concentrated methanol extract was resulted from 10 kg star fruit that was macerated using methanol. This extract was dissolved into methanol-water (7:3) and then partitioned with n-hexane and chloroform respectively, resulting in concentrated extracts of 0.10 g of n-hexane, 0.07 g of chloroform, and 48.01 g of water. The result of phytochemical test for flavonoid for all of the extracts suggested that water extracts showed most be test intense to the flavonoid.

Separation of water extract using column chromatography resulted in F_B fractions that was orange as much as 0.2027 g and contains flavonoid. Infra red and UV-vis spectroscopy were employed in order to identify the F_B fraction. The result of identification showed that isolate (fraction F_B) was catechin compounds which contained hydroxyl groups at C-3, C-7 and C-4'. It also had functional groups like -OH, C-H aromatic, C-H aliphatic, C=C aromatic, C-O alcohol, and it did not contained C=O carbonyl group. The isolate inhibited *E.coli* growth at 100 ppm and *S. aureus* growth at 500 ppm.

Keywords : *Averrhoa carambola* Linn ., flavonoid, antibacterial, isolation, identification

PENDAHULUAN

Tumbuhan belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.), dikenal dengan beberapa nama seperti; belimbing amis (Sunda), blimbing legi (Jawa), bainang sulapa (Makasar), dan

balireng (Bugis) (Wiriyowidagdo dan Sitanggang, 2002). Secara umum tumbuhan ini digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati penyakit malaria, sakit tenggorokan, diare, luka, bisul, koreng, asma, dan influenza (Sirait, 1989). Menurut

Arisandi dan Yovita (2005) serta Hariana (2004) bahwa tumbuhan belimbing manis memiliki efek farmakologis seperti antiradang usus, antimalaria, antirematik, analgesik, peluruh liur, peluruh kencing (*diuretic*), menghilangkan panas, dan sebagai pelembut kulit. Bagian buah secara empiris juga dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk tekanan darah tinggi, menurunkan kadar kolesterol darah, mencegah kanker, memperlancar pencernaan, obat batuk, peluruh air kencing, peluruh lemak, dan radang usus (Wiryowidagdo dan Sitanggang, 2002; Arisandi dan Yovita, 2005; Rukmana, 1996). Radang usus adalah suatu penyakit yang kemungkinan dapat disebabkan oleh bakteri, virus atau parasit. Radang usus yang disebabkan oleh bakteri biasanya berasal dari bakteri *Eschericia coli* dengan gejala yang muncul adalah diare (Agnes, 2006; Ismailfahmi, 2006). Efek farmakologis dari buah belimbing manis ini kemungkinan disebabkan oleh salah satu atau gabungan beberapa senyawa kimia yang terkandung didalamnya seperti; senyawa golongan flavonoid, alkaloid, saponin, protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, serta vitamin A, B1 dan vitamin C (Wiryowidagdo dan Sitanggang, 2002).

Hasil uji skrining fitokimia pendahuluan terhadap ekstrak kental metanol buah belimbing manis diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, dan, saponin, dengan kemungkinan kandungan utamanya adalah flavonoid. Hal ini dilihat secara kualitatif dari intensitas warna yang timbul setelah ditambahkan beberapa pereaksi untuk deteksi senyawa golongan flavonoid. Berdasarkan pemanfaatannya secara empiris yang salah satunya untuk mengobati penyakit radang usus yang disebabkan oleh bakteri, serta hasil uji fitokimia pendahuluan yang menunjukkan bahwa buah belimbing manis kemungkinan mengandung senyawa metabolit sekunder yang utama adalah flavonoid, maka dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa golongan flavonoid dan menentukan aktivitas isolat flavonoid tersebut terhadap bakteri *Eschericia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* Linn.) yang diperoleh dari Desa Pacung Bitera Gianyar, Bali. Identifikasi tentang taksonomi tumbuhan dilakukan di LIPI-UPT. Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bali. Bahan kimia yang digunakan adalah metanol (MeOH), n-heksana, dan kloroform (CHCl₃) yang berderajat p.a dan teknis, asam asetat p.a., n-butanol p.a., asam kolrida pekat, natrium hidroksida, serbuk magnesium, asam sulfat pekat, kalium bromida, akuades, natrium asetat anhidrat, asam borat anhidrat, aluminium klorida, silika gel 60 (E.Merck 70-230 mesh), dan silika gel GF₂₅₄ (E. Merck).

Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi: seperangkat alat gelas, neraca analitik, blender, pisau, penguap putar vakum, lampu UV, seperangkat alat kromatografi lapis tipis dan kolom, desikator, tabung reaksi, plat tetes, batang pengaduk, botol semprot, pipa kapiler, spektrofotometer UV-Vis Secoman S 1000 PC dan spektrofotometer Jasco FTIR-5300

Cara Kerja

Secara bertahap sebanyak 10 Kg irisan tipis buah belimbing manis dihaluskan dengan cara diblender dan ditambahkan metanol teknis sebagai pelarut. Proses maserasi cara basah ini dilakukan 6 (enam) kali dengan setiap kali maserasi menggunakan 4 L MeOH. Ekstrak MeOH yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu 60° sampai diperoleh ekstrak kental MeOH. Ekstrak kental MeOH disuspensikan kedalam campuran pelarut MeOH-H₂O (7:3) kemudian dipartisi dengan n-heksana (10 x 25 mL). Ekstrak n-heksana yang diperoleh diuapkan sampai kental, sedangkan bagian MeOH-H₂O diuapkan sampai semua MeOH habis menguap. Bagian ekstrak air yang tersisa dipartisi (8 x 25 mL) dengan kloroform (CHCl₃) sehingga didapat ekstrak air dan ekstrak kloroform yang selanjutnya masing-masing ekstrak tersebut diuapkan sehingga diperoleh

ekstrak kental air dan ekstrak kental kloroform. Masing-masing ekstrak kental yang diperoleh (ekstrak kental *n*-heksana, ekstrak kental kloroform dan ekstrak kental air) dilakukan uji fitokimia flavonoid. Ekstrak yang positif flavonoid dilanjutkan untuk dipisahkan dan dimurnikan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 dan fase gerak campuran dari *n*-butanol-asam asetat-air (4:1:5) Tiap fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom diuji flavonoid dan fraksi yang positif flavonoid setelah relatif murni kemudian diidentifikasi menggunakan alat spektrofotometer UV-vis dan Inframerah, serta uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Senyawa Flavonoid dari Buah Belimbing Manis

Hasil maserasi cara basah dari 10 Kg irisan buah belimbing manis (*Averrhoa*

carambola Linn.) yang menggunakan total pelarut MeOH sebanyak 24 L, diperoleh sekitar 140,56 g ekstrak kental metanol yang berwarna coklat kemerahan. Hasil partisi dari ekstrak MeOH-H₂O (7:3) menggunakan pelarut berturut-turut *n*-heksana dan kloroform (CHCl₃) diperoleh ekstrak kental *n*-heksana yang berwarna kuning sebanyak 0,10 g, ekstrak kental kloroform yang berwarna kuning sebanyak 0,07 g dan ekstrak kental air yang berwarna coklat kemerahan sebanyak 48,01 g.

Hasil uji flavonoid dari ketiga ekstrak kental yang diperoleh menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut positif mengandung senyawa golongan flavonoid dengan indikasi beberapa perubahan warna setelah ditambahkan dengan pereaksi-pereaksi flavonoid seperti yang dipaparkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia flavonoid ketiga ekstrak hasil partisi dengan beberapa pereaksi

No	Ekstrak Kental	Perubahan Warna dengan Pereaksi			Keterangan
		Mg-HCl	H ₂ SO ₄ pekat	NaOH 10%	
1	<i>n</i> -heksana	Bening-orange	Bening-orange	Bening-kuning muda	(+) Flavonoid
2	Kloroform	Bening-merah muda	Bening-orange	Bening-kuning muda	(++) Flavonoid
3	Air	Bening-merah magenta	Bening-orange	Bening-kuning	(+++) Flavonoid

Catatan: (+) intensitas warna lemah; (++) intensitas warna sedang; (+++) intensitas warna kuat.

Oleh karena jumlah ekstrak kental air paling banyak yaitu 48,01 g dan secara kualitatif intensitas warna yang timbul setelah penambahan pereaksi flavonoid paling kuat, maka dapat diduga kemungkinan dalam ekstrak kental air mengandung komponen flavonoid yang paling dominan (mayor). Hasil pemisahan

terhadap 2,12 g ekstrak kental air menggunakan teknik kromatografi kolom dengan fase diam silika gel 60 dan fase gerak campuran dari *n*-butanol-asam asetat-air (4:1:5) diperoleh 8 (delapan fraksi) dengan pola noda yang berbeda seperti yang dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perolehan berat masing-masing fraksi hasil kromatografi kolom (100 g fase diam silika gel 60, 70-100 mesh; panjang dan diameter kolom berturut-turut 43 cm dan 2 cm, fase gerak n-butanol-asam asetat-air (4:1:5)) dari ekstrak kental air

Fraksi	Berat (g)	Warna	Jumlah Noda	Harga Rf
F _A (22-34)	0,0622	Kuning muda	1	0,61
F _B (36-52)	0,2027	Orange	1	0,51
F _C (54-56)	0,0745	Kuning	3	0,51; 0,39; 0,18
F _D (58-70)	0,0901	Kuning Orange	2	0,39; 0,18
F _E (72-78)	0,0512	Kuning muda	1	0,18
F _F (80-92)	0,1316	Orange	1	0,18
F _G (94-108)	0,0618	Kuning	2	0,14; 0,08
F _H (110-191)	0,6491	Orange kecoklatan	1	0,08

Tabel 3. Hasil uji fitokimia flavonoid terhadap fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom

No	Fraksi (F)	Perubahan Warna dengan Pereaksi			Keterangan
		Mg-HCl	H ₂ SO ₄ pekat	NaOH 10%	
1	F _A	Bening-kuning	Bening-orange	Bening-kuning muda	(+) Flavonoid
2	F _B	Bening-merah	Bening-orange kecoklatan	Bening-orange kemerahan	(+++) Flavonoid
3	F _C	Bening-merah muda	Bening-orange	Bening-kuning muda	(++) Flavonoid
4	F _D	Bening-bening	Bening-orange	Bening-putih	(-) Negatif flavonoid
5	F _E	Bening-orange	Bening-orange	Bening-kuning	(++) Flavonoid
6	F _F	Bening-kuning orange	Bening-kecoklatan	Bening-kuning muda	(++) Flavonoid
7	F _G	Bening-bening	Bening-kuning	Bening-bening	(-) Negatif flavonoid
8	F _H	Bening-merah	Bening-orange	Bening-kuning	(+++) Flavonoid

Catatan: (+) intensitas warna lemah; (++) intensitas warna sedang; (+++) intensitas warna kuat

Hasil uji fitokimia flavonoid pada delapan fraksi diatas menunjukkan hanya 6 (enam) fraksi yang positif flavonoid terhadap pereaksi Willstatter (Mg-HCl pekat), H_2SO_4 pekat, dan larutan NaOH 10% selengkapnya dipaparkan pada Tabel 3.

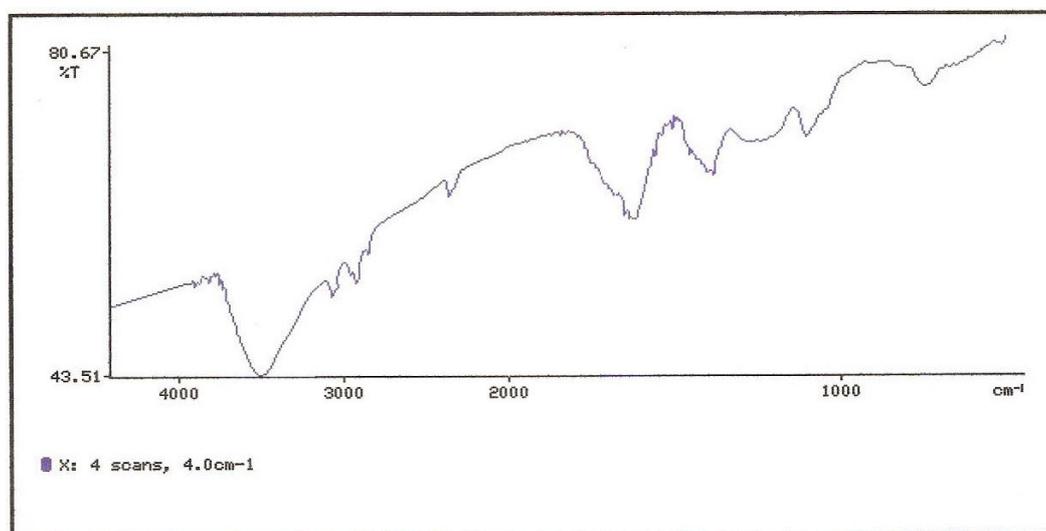
Secara kualitatif dari intensitas warna menunjukkan bahwa Fraksi F_B dan F_G dapat dipastikan mengandung flavonoid. Dengan mempertimbangkan jumlah noda dan berat fraksi dari delapan fraksi tersebut, maka fraksi F_B dengan berat 0,2027 g dilanjutkan untuk diidentifikasi.

Identifikasi Isolat (Fraksi F_B)

Sebelum diidentifikasi Fraksi F_B diuji kemurnian secara kromatografi lapis tipis (KLT) pada berbagai fase gerak yaitu: n-butanol-asam asetat-air (4:1:5), kloroform-metanol (2:8); n-butanol-kloroform (1:1); metanol-asam asetat-air

(3:1:5); dan n-heksana-kloroform-metanol (2:2:1). Hasil uji kemurnian menunjukkan F_B relatif murni secara KLT karena tetap memberikan noda tunggal.

Hasil spektrum inframerah menunjukkan bahwa isolat kemungkinan mengandung beberapa gugus fungsi seperti $-OH$ ($3434,0\text{ cm}^{-1}$) yang didukung juga oleh munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang $1102,0\text{ cm}^{-1}$ untuk ikatan C-O alkohol. Gugus C-H aromatik muncul pada daerah bilangan gelombang $3060,1\text{ cm}^{-1}$. Ikatan C-H alifatik muncul pada $2924,6\text{ cm}^{-1}$ dan diperkuat dengan munculnya serapan bending pada daerah bilangan gelombang $1385,4\text{ cm}^{-1}$. Gugus dari ikatan C=C aromatik ditunjukkan dengan munculnya serapan pada daerah bilangan gelombang $1636,0\text{ cm}^{-1}$. Spektrum inframerah dari isolat (Fraksi F_B) dipaparkan pada Gambar 1 dan analisisnya pada Tabel 4.



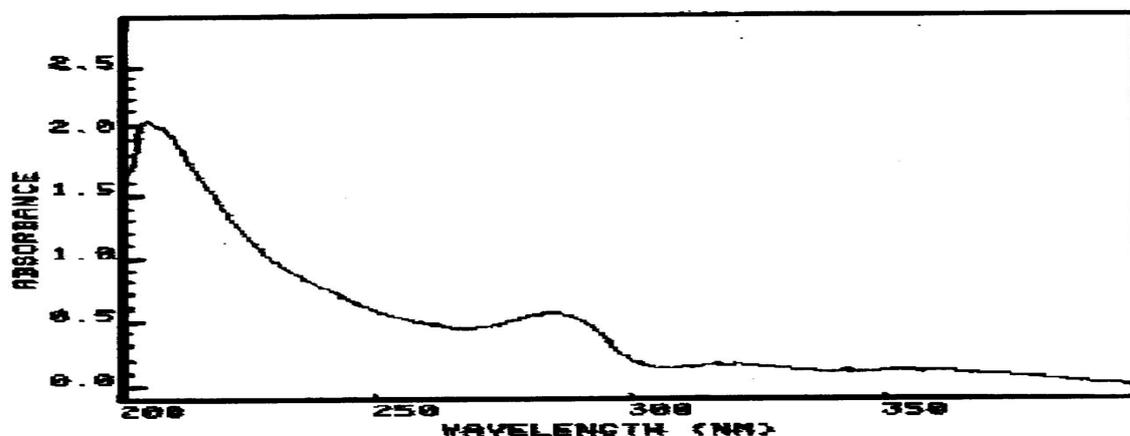
Gambar 1. Spektrum inframerah isolat (Fraksi F_B) dengan pelet KBr

Tabel 4. Analisis spektrum inframerah senyawa hasil isolasi (Fraksi F_B)

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Bentuk Pita	Kemungkinan Gugus Fungsi
	Pada Spektra	Pada Pustaka (Sastrohamidjojo, 1997; Lambert <i>et al.</i> , 1976)		
1	3434,0	3000-3500	Melebar	-OH
2	3060,1	3050-3150	Tajam	-CH aromatik
3	2924,6	2700-3010	Tajam	-C-H alifatik stretching
4	1636,0	1450-1650	Sedang	-C=C- aromatik
5	1385,4	1300-1475	Sedang	-C-H- alifatik bending
6	1102,0	1000-1300	Sedang	-C-O- alkohol

Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV-vis isolat memberikan 2 pita serapan yang karakteristik untuk senyawa flavonoid golongan katekin, yaitu serapan pada panjang gelombang 278,9 nm (pita I), dan 203,8 nm (pita II). Menurut Tempesta dan Michael (2007) senyawa flavonoid golongan katekin mempunyai serapan maksimum pita I pada panjang gelombang 275-280 nm dan serapan pita II pada panjang gelombang 202-204 nm. Dugaan golongan katekin dari isolat (fraksi F_B) juga didukung dengan data spektrum inframerah yang menunjukkan tidak adanya serapan gugus C=O pada daerah bilangan gelombang sekitar 1600-1700 cm⁻¹, yang mana katekin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang tidak mempunyai

gugus karbonil (C=O) pada kerangka dasarnya. Pola oksigenasi atau kemungkinan letak substituen gugus hidroksi (OH) pada kerangka katekin diperoleh dari beberapa pereaksi diagnostik/ pereaksi geser seperti: NaOH, NaOAc, NaOAc-H₃BO₃, AlCl₃, dan AlCl₃-HCl. Hasil pergeseran panjang gelombang setelah penambahan tiap-tiap pereaksi geser tersebut dapat disimpulkan bahwa kemungkinan letak substituen gugus hidroksi pada kerangka katekin adalah pada posisi atom C-3, C-7 dan C-4'. Spektrum UV-vis sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser dan data tabulasinya dipaparkan pada Gambar 2 dan Tabel 5 sebagai berikut:



Gambar 2. Spektrum spektrofotometri UV-vis isolat (UV-vis Secoman S 1000 PC)

Tabel 5. Data spektrum UV-Vis dari isolat (fraksi F_B) sebelum dan sesudah penambahan pereaksi geser

Isolat (fraksi F _B)	Panjang Gelombang		Geseran Panjang Gelombang	
	λ_{maks} (nm)		λ_{maks} (nm)	
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II
+ Metanol	203,8	278,9		
+ Metanol + NaOH	208,4	282,6	+ 4,6	+ 3,7
+ Metanol + NaOH (5 menit)	207,8	282,7	+ 4,0	+ 3,8
+ Metanol	203,8	278,9		
+ Metanol + NaOAc	207,1	279,8	+ 3,3	+ 0,9
+ Metanol + NaOAc + H ₃ BO ₃	208,5	281,6	+ 4,7	+ 2,7
+ Metanol	203,8	278,9		
+ Metanol + AlCl ₃	203,2	278,1	- 0,6	- 0,8
+ Metanol + AlCl ₃ + HCl	203,4	278,8	- 0,4	- 0,1

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Isolat flavonoid fraksi F_B dari ekstrak kental air buah belimbing manis diduga termasuk golongan katekin dengan kemungkinan terdapat gugus hidroksi pada C-3, C-7, dan C-4'. Identifikasi dengan spektrofotometer inframerah diduga bahwa isolat flavonoid mengandung gugus OH, C-H aromatik, C-H alifatik, C=C aromatik, C-O alkohol, dan tidak adanya gugus C=O
2. Isolat flavonoid Fraksi F_B dari ekstrak kental air buah belimbing manis diduga dapat menghambat bakteri gram positif dan gram negatif, masing-masing mulai dari konsentrasi 500 ppm dan 100 ppm

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi isolat aktif dengan menggunakan analisis NMR, dan GC-MS

sehingga dapat ditetapkan suatu struktur usulan dari isolat aktif tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Sri Rahayu Santi, S.Si., M.Si dan Letda Cba (K) Made Putri Suwateriyani, S.Si serta kepada semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnes, 2006, Radang Lambung dan Usus, <http://id.wikipedia.org/wiki>, 10 Nopember 2006
- Arisandi, Y., dan Yovita, A., 2005, *Khasiat Tanaman Obat*, Edisi I, Pustaka Buku Murah, Jakarta
- Farnsworth, N. R., 1996, Biological and Phytochemical Screening of Plant, *J. Pharm. Science*, 55 (3) : 225-276

- Geissman, T. A., 1962, *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, Pergamon Press, Inc., New York
- Hamburger, M. O. and Cordell, G. A., 1987, Traditional Medicinal Plants of Thailand, VIII. Isoflavonoids of *Dalbergia candenatensis*, *J. Nat. Prod.*, 50 (4) : 696-699
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia* 2nd ed., a.b. Padmawinata, K., Soediro, J., ITB, Bandung
- Hariana, H. A., 2004, *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Seri I, Penebar Swadaya, Jakarta
- Ismailfahmi, 2006, Radang Usus, <http://www.mailarchive.com/dokter@itb.ac.id/msg12746.html>, 10 Nopember 2006
- Rukmana, R, 1996, Belimbing, Kanisius, Yogyakarta
- Sastrohamidjojo, H., 1991, *Spektroskopi*, Edisi II, Liberty, Yogyakarta
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., and Morrill, T. C., 1991, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, Fifth Ed., Jhon Wiley & Sons, Inc , Canada
- Sirait, M., 1989, *Pemanfaatan Tanaman Obat, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, Edisi III., Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Jakarta
- Tempesta and Michael, S., 2007, Proanthocyanidin Polymers Having Antiviral Activity and Methodes of Obtaining Same, <http://www.freepatentsonline.com/5211944>, 23 April 2007
- Wirjowidagdo, S., dan Sitanggang, M., 2002, *Tanaman Obat untuk Penyakit Jantung, Darah Tinggi, dan Kolesterol*, AgroMedia Pustaka, Jakarta