

PENETAPAN PARAMETER STANDARISASI NON SPESIFIK EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.)

Zainab^{1*}, Faril Gunanti¹, Hardi Astuti Witasari¹, Citra Ariani Edityaningrum¹,
Mustofa², dan Mimiek Murrukmihadi³

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta 55164

² Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

³ Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

*Corresponding author email: zainab@pharm.uad.ac.id

Abstrak

Latar belakang: Produk obat-obat herbal yang berkualitas ditentukan oleh mutu dari bahan baku yang digunakan. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai salah satu bahan baku utama dalam produk herbal perlu dilakukan penetapan parameter non spesifik sebagai langkah peningkatan mutu produk.

Tujuan: menetapkan parameter non spesifik ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh.

Metode: Desain penelitian non eksperimental. Ekstrak daun belimbing wuluh dibuat dengan metode maserasi menggunakan etanol 60% hingga diperoleh ekstrak kental. Uji parameter non spesifik kadar air menggunakan metode destilasi toluen, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam menggunakan metode gravimetri, penetapan batas logam timbal (Pb) dan cadmium (Cd) menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA), serta cemaran mikroba meliputi Angka Lempeng Total (ALT) dan identifikasi mikroba patogen.

Hasil penelitian: penetapan parameter non spesifik ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh menunjukkan susut pengeringan simplisia $9,22 \pm 0,17\%$, kadar air ekstrak $6,45 \pm 0,16\%$, kadar abu total $7,68 \pm 0,20\%$, kadar abu tidak larut asam $3,49 \pm 0,18\%$, kadar logam Pb $0,46 \pm 0,25$ ppm dan Cd $0,03 \pm 0,006$ ppm, angka lempeng total < 10 CFU/gram dan tidak terdapat mikroba patogen *E. coli*, *Salmonella*, *S. aureus*.

Kesimpulan: ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh dari desa Hargobinangun, Pakem, Sleman memenuhi persyaratan secara umum berdasarkan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.

Kata kunci: *Averrhoa bilimbi* L., daun belimbing wuluh, ekstrak etanol 60%, parameter non spesifik.

1. PENDAHULUAN

Tanaman belimbing wuluh digunakan sebagai obat tradisional untuk banyak gejala penyakit, antara lain untuk pengobatan demam, gondok, jerawat, peradangan pada rectum dan diabetes, gatal, bisul, rematik, sifilis, kolik empedu, batuk rejan, hipertensi, sakit perut, maag dan sebagai minuman pendingin (1). Belimbing wuluh memiliki berbagai sifat yang bermanfaat termasuk antidiabetes dan aktivitas antioksidan (2). Melihat besarnya potensi tanaman *Averrhoa bilimbi* L. sebagai tanaman obat, maka perlu dilakukan standarisasi ekstrak daun belimbing wuluh. Standarisasi dilakukan agar dapat diperoleh bahan baku yang seragam yang dapat menjamin aktivitas farmakologi tanaman tersebut. Standarisasi merupakan proses penjaminan produk akhir (simplisia, ekstrak,

produk atau produk herbal) agar mempunyai nilai parameter tertentu yang konstan (3).

Parameter non spesifik berfokus pada aspek kimia, mikrobiologi, dan fisis yang akan mempengaruhi keamanan konsumen dan stabilitas, meliputi kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, cemaran logam berat, dan cemaran mikroba.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan meliputi: serbuk daun belimbing wuluh (dari Desa Hargobinangun, Pakem, Sleman), etanol farmasetis 60% v/v, asam nitrat pekat (Merck KGaA 64271), asam klorida pekat (Merck KGaA 64271), NaCl fisiologis steril, toluen p.a (Merck

KGaA 64271), etanol p.a ((Merck KGaA 64271), aquadest, media *Muller Hinton* Agar, media *EC Broth*, media *Rappaport-Vassiliadis*, media *Geolity*, media *Tryptone Bile X-glucoronide* (TBX) Agar, media *Baird Parker* Agar, dan media *Salmonella Shigella* (SS) Agar.

2.2. Metode

2.2.1. Penetapan Kadar Air

Ekstrak ditimbang seksama 5 gram, dimasukkan ke dalam labu kering. Dimasukkan lebih kurang 200 mL toluen jenuh air ke dalam labu, pasang rangkaian alat. Dimasukkan toluen jenuh air ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mulai mendidih, atur penyulingan dengan kecepatan lebih kurang dari 2 tetes tiap detik, hingga sebagian besar air tersuling, kemudian naikkan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima didinginkan sampai suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % v/b (4).

2.2.2. Penetapan Kadar Abu

Ekstrak ditimbang 2 gram dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar pada suhu 600°C dan telah ditara. Ekstrak dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, diaduk, disaring melalui kertas saring bebas abu. Kertas saring dipijarkan beserta sisa penyaringan dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (4).

2.2.3. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit, kemudian dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan dalam krus hingga bobot tetap/ konstan. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan uji dinyatakan dalam % b/b (4).

2.2.4. Penetapan batas angka logam Timbal dan Kadmium

Penetapan angka logam Timbal dan Kadmium dilakukan oleh Laboratorium Pengujian Balai Laboratorium Kesehatan (BLK)

Yogyakarta menggunakan metode destruksi basah pada ekstrak kemudian diukur dengan SSA berdasarkan cara kerja penetapan batas angka logam yang tercantum dalam Farmakope Indonesia Edisi III.

2.2.5. Cemaran mikroba

2.2.5.1. Uji angka lempeng total

Sebanyak 500 mg ekstrak dimasukkan secara aseptik ke dalam tabung dan ditambah 4,5 mL larutan NaCl 0,9 % steril (pengenceran 10 kali) campur homogen, selanjutnya dilakukan pengenceran 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10000 dengan NaCl 0,9 % steril. Diambil 100 µl tuangkan pada media *Mueller Hinton* untuk masing-masing pengenceran. Kemudian ratakan dengan *spreader* berulang-ulang hingga cairan merata pada petri. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dihitung jumlah koloni bakteri pada masing-masing petri pada berbagai pengenceran.

2.2.5.2. Identifikasi Mikroba Patogen

Sedikit ekstrak ditambah NaCl 0,9% steril kemudian dihomogenkan dengan stomacher (230 rpm 30 detik), sebanyak satu ml diinokulasikan ke dalam media penyubur (*EC Broth* untuk *Escherichia coli*, *Rappaport-Vassiliadis Broth* untuk *Salmonella sp.*, *Geolity* untuk *Staphylococcus aureus*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian digoreskan pada media selektif (TBX agar untuk *Escherichia coli*, *Salmonella Shigella* agar untuk *Salmonella sp.*, *Baird Parker* agar untuk *Staphylococcus aureus*). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lihat pertumbuhan koloni bakteri bandingkan dengan kontrol.

3. HASIL

Parameter standardisasi ekstrak meliputi parameter non spesifik dan spesifik. Parameter non spesifik lebih terkait dengan faktor lingkungan dalam pembuatan ekstrak. Penetapan parameter non spesifik ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dilakukan terhadap susut pengeringan, kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, cemaran logam berat dan cemaran mikroba. Hasil penetapan parameter standarisasi non spesifik dapat dilihat pada tabel I.

Hasil penetapan parameter standarisasi ekstrak diperoleh: susut pengeringan (%) 9,22±0,17, kadar air (%) 6,45±0,16, kadar abu (%) 7,68±0,20, kadar abu tidak larut asam (%) 3,49±0,18, batas logam Pb (ppm) 0,46±0,25,

batas logam Cd (ppm) $0,03 \pm 0,006$, cemaran mikroba (CFU/g) > 10 , dan tidak ditemukan koloni mikroba patogen *E. coli*, *Salmonella* dan *S. aureus*.

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan parameter standardisasi non spesifik dari ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sehingga kedepannya dapat memberikan informasi ilmiah dari *Averrhoa bilimbi* L. Penelitian ini penting untuk dilakukan karena belum adanya batasan standar dari ekstrak *Averrhoa bilimbi* L. Parameter standardisasi ekstrak meliputi parameter non spesifik dan spesifik. Parameter non spesifik lebih terkait dengan faktor lingkungan dalam pembuatan ekstrak. Hasil penetapan parameter

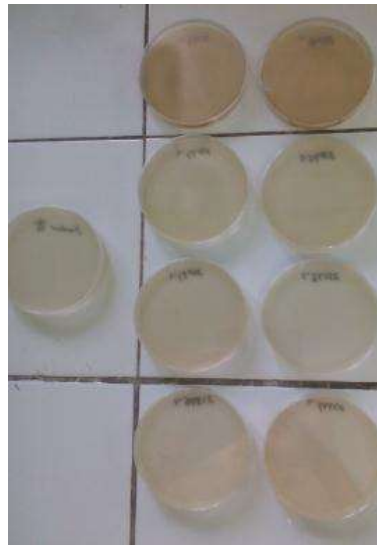
non spesifik ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat disimpulkan telah memenuhi ketentuan yang ditetapkan di dalam Farmakope Herbal Indonesia secara umum. Proses hilangnya kandungan air pada saat pengeringan dapat diketahui dari kadar susut pengeringan serbuk daun belimbing wuluh yaitu sebesar $9,22 \pm 0,17\%$. Penetapan susut pengeringan merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam standarisasi tanaman yang berkhasiat obat. Dengan mengetahui susut pengeringan dapat memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (5). Hasil penetapan parameter non spesifik ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil parameter non spesifik ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh

Penetapan Ekstrak Kental	Hasil
Rendemen (%)	22,16
Susut Pengeringan (%)	$9,22 \pm 0,17$
Kadar air (%)	$6,45 \pm 0,16$
Kadar abu (%)	$7,68 \pm 0,20$
Kadar abu tidak larut asam (%)	$3,49 \pm 0,18$
Batas logam Timbal (ppm)	$0,46 \pm 0,25$
Batas logam Kadmium (ppm)	$0,03 \pm 0,006$
Jumlah mikroba (CFU/g)	< 10
<i>Escherichia coli</i>	Negatif
<i>Salmonella</i>	Negatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negatif

Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang tentang besarnya kandungan air. Nilai maksimal yang diperbolehkan terkait dengan kemurnian dan kontaminasi (5). Metode yang digunakan yaitu metode destilasi toluen. Hasil dari penetapan kadar air ekstrak diperoleh $6,45 \pm 0,16\%$, hal ini sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan yaitu $< 10\%$. Penetapan kadar abu dan abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak dan untuk mengontrol jumlah pencemaran benda-benda anorganik. Metode yang digunakan yaitu metode gravimetri. Hasil dari penetapan kadar abu yaitu $7,68 \pm 0,20\%$ sedangkan kadar abu tidak larut asam yaitu $3,49 \pm 0,18\%$. Penetapan kadar

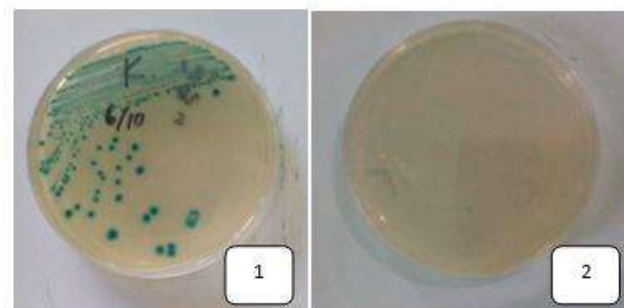
cemaran logam berat timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) bertujuan untuk memberikan jaminan bahwa ekstrak tidak mengandung logam berat melebihi nilai yang ditetapkan, karena berbahaya untuk kesehatan. Metode yang digunakan yaitu spektrofotometri serapan atom (SSA) karena lebih selektif dalam menentukan kadar logam sampel. Kadar timbal (Pb) yang diperoleh sebesar 0,46 ppm dan Kadmium (Cd) sebesar 0,03 ppm. Sedangkan cemaran mikroba meliputi uji angka lempeng total dan identifikasi mikroba patogen. Uji angka lempeng total merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba pada suatu sampel. Metode yang digunakan adalah metode cawan sebar, didapatkan hasil jumlah bakteri < 10 CFU/ml. Hasil pengamatan uji angka lempeng total dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji Angka Lempeng Total

Pada identifikasi bakteri *E. coli* digunakan media kromogenik TBX adanya *E. coli* ditandai dengan koloni biru kehijauan seperti pada kontrol positif *E. coli* sedangkan

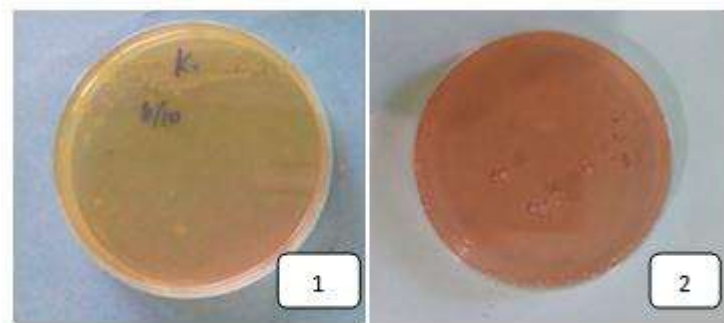
untuk sampel ekstrak tidak ditemukan koloni biru kehijauan seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.



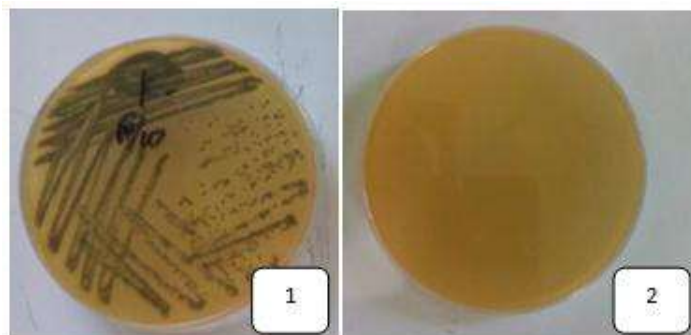
Gambar 2. Hasil Uji adanya cemaran *Escherichia coli* dengan menggunakan media TBX : 1) kontrol positif, 2) sampel ekstrak

Pada identifikasi bakteri Salmonella digunakan media SS (Salmonella Shigella) yang merupakan media selektif untuk Salmonella dan Shigella. Pada identifikasi *S. aureus* digunakan media Baird Parker adanya koloni *S. aureus*

ditandai dengan koloni warna hitam seperti pada kontrol positif sedangkan untuk sampel ekstrak tidak ditemukan koloni warna hitam seperti yang ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil Uji adanya cemaran *Salmonella* dengan menggunakan media *Salmonella* dan *Shigella*: 1) kontrol positif, 2) sampel ekstrak



Gambar 4. Hasil Uji adanya cemaran *S.aureus* dengan menggunakan media *Baird Parker* : 1) kontrol positif, 2) sampel ekstrak

5. KESIMPULAN

Secara umum dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 60% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memenuhi persyaratan berdasarkan Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Hasil penetapan parameter non spesifik ekstrak belimbing wuluh diperoleh kadar air $6,45 \pm 0,16\%$, kadar abu $7,68 \pm 0,20\%$, kadar abu tidak larut asam $3,49 \pm 0,18\%$, kadar logam timbal (Pb) 0,46 ppm, logam kadmium (Cd) 0,03 ppm, jumlah cemaran bakteri < 10 CFU/g, serta tidak terdapat bakteri patogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian hibah PEKERTI yang di danai oleh Kemenristekdikti No: 011/HB-LIT/III/2015.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar KA, Gousia SK, Anupama M, Latha JNL. A review on phytochemical constituents and biological assays of

Averrhoa bilimbi. Int J Pharm Pharm Sci Res. 2013;3:136–9.

- Chauhan JB, Kapfo W. Effect of Traditional Sun-Drying on Phenolic Antioxidants of *Averrhoa Bilimbi* L. Int J Appl Biol P [Internet]. 2013 [cited 2016 Jul 22]; Available from: <http://www.ijabpt.org/applied-biology/effect-of-traditional-sundrying-on-phenolic-antioxidants-of-averrhoa-bilimbi-l.php?aid=4747>
- Arifin H, Anggraini N, Handayani D, Rasyid R. Standarisasi ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr. J Sains Tek Far. 2006;11(2):88–93.
- Direktorat Jendral POM. Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1. Dep Kesehat RI Jkt Hal. 2008;174–5.
- Direktur Jenderal POM. Parameter Standarisasi Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.