

Kandungan Saponin Buah, Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

The Content of Saponin in Fruits, Leaves and Petioles of Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Fahrnunnida¹, Rarastoeti Pratiwi²

Laboratorium Biokimia, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknika Selatan, Sekip Utara Yogyakarta, Indonesia

nida13ningrat@gmail.com; rarastp@ugm.ac.id

Abstract: In Indonesia, *belimbing wuluh* (*Averrhoa bilimbi* L.) has been used for traditional medicine, especially to heal stiff, mumps, rheumatism, ulcers, acne, tinea versicolor, high blood pressure, and dental pain and cough. This property is predicted comes from its secondary metabolites. Saponin is a compound group of secondary metabolites which is known to have antitussives and expectorants effect, antiinflammatory, antibacterial, and cytotoxic activity for cancer therapy. However, scientific information about the location for saponin accumulation in this plant is still limited. This information is needed for the use of saponin from *A. bilimbi* for herbal medicines development. The aim of this study was to know the content of saponin in fruits, leaves, and petioles of *A. bilimbi*. This work was initiated with sampling and preparation of samples, followed by the preliminary tests, including froth test and color test to show the saponin content qualitatively. Saponin was extracted and isolated by maseration using methanol solvent, and by thin layer chromatography (TLC) preparative, respectively. Saponin content was measured by spectrophotometer UV-Vis at 280 nm. Result shows that the highest saponin content, according to the absorbance value, is in the fruit organ. In *A. bilimbi*, saponin could be accumulated in the generative organ, although saponin synthesis is located in leaves. Based on the production of brown ring with Liebermann Burchard (LB) reagent test, it is suggested that triterpen saponin is the dominant saponin presents in *A. bilimbi*. Saponin content in *A. bilimbi* fruits is higher than saponin content in *Musa paradisiaca* var. *sapientum* L. stems. Therefore, triterpen saponin from *A. bilimbi* fruits is promising to be developed as commercial herbal medicines.

Keywords: *Averrhoa bilimbi* L., saponin accumulation, TLC, spectrophotometer

1. PENDAHULUAN

Tumbuhan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) telah dimanfaatkan masyarakat sebagai tanaman obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit antara lain pegal linu, gondongan, rematik, sariawan, jerawat, panu, darah tinggi, dan sakit gigi. Kulit batang belimbing wuluh juga diketahui memiliki aktivitas antimikrobia, baik terhadap bakteri Gram Positif, bakteri Gram Negatif, maupun terhadap fungi (Suddique *et. al.*, 2013). Sementara buah dan bunga belimbing wuluh juga telah banyak digunakan masyarakat sebagai obat batuk (Salsa cited Ardananurdin *et. al.*, 2004; Packer *et. al.*, 2004).

Berbagai macam khasiat yang dimiliki *A. bilimbi* tersebut disebabkan karena tumbuhan ini memiliki banyak sekali kandungan senyawa antara lain saponin, flavonoid dan polifenol (Mursito cited Ardananurdin *et. al.*, 2004). Saponin yang

merupakan salah satu metabolit sekunder belimbing wuluh adalah glikosida yang tersusun dari gula yang berikatan dengan aglikon. Aglikon, (disebut juga sapogenin) memiliki struktur yang terdiri dari rantai triterpenoid atau steroid dan bersifat non polar. Struktur saponin tersebut menyebabkan saponin bersifat seperti sabun atau deterjen sehingga saponin disebut sebagai surfaktan alami (nama saponin diambil dari sifat utama ini yaitu “sapo” dalam bahasa Latin yang berarti sabun) (Calabria, 2008; Hawley & Hawley, 2004)

Berbagai penelitian telah menemukan bahwa saponin dapat memberikan efek *antitussives* dan *expectorants* (Eccles & Weber, 2009). Efek tersebut membantu menyembuhkan batuk. Saponin yang memiliki sifat *antiinflammatory* juga telah terbukti efektif untuk menyembuhkan edema (respon *inflammatory*) pada tikus dan memiliki aktivitas *antiinflammatory* (Hikino & Kiso cited Seigler, 1998). Kemampuan saponin tersebut menjadikan



saponin sebagai metabolit sekunder yang penting bagi bidang medis.

Informasi tentang organ tempat akumulasi saponin pada tanaman belimbing wuluh masih sangat diperlukan, dalam rangka pemanfaatan tanaman tersebut sebagai sumber saponin. Namun, hingga saat ini belum banyak informasi mengenai organ pengakumulasi saponin dalam tanaman belimbing wuluh. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan saponin dalam buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh.

2. METODE

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), aquades, asam klorida 2 N, kloroform, pereaksi LB (Liebermann Burchard), metanol, alkohol 95%, dan lempeng preparatif silika gel 60 F254 Merck.

2.2. Prosedur Kerja

2.2.1. Pengambilan Sampel

Buah, bunga dan daun belimbing wuluh dikoleksi dari satu tanaman belimbing wuluh yang tumbuh di Desa Gunung Gempal, Kec. Wates, Kab. Kulon Progo, Yogyakarta. Masing-masing sampel organ diambil untuk 3 ulangan. Dalam pengambilan sampel buah dipilih buah yang berukuran sedang dengan panjang sekitar 5-5,5 cm dan berat sekitar 20 gram. Untuk sampel daun dipilih daun yang berjarak 4-5 cm dari pucuk batang dan dipilih yang berwarna hijau, sedangkan untuk sampel tangkai daun dipilih yang berwarna hijau dari 2 cabang yang berbeda.

2.2.2. Preparasi Sampel

Sampel berupa daun belimbing wuluh, dibersihkan dengan air kemudian dikering-anginkan selama 3 hari. Sampel daun yang sudah kering kemudian diblender hingga menjadi simplisia. Untuk buah belimbing wuluh setelah dibersihkan dengan air, buah diiris tipis-tipis kemudian dikering-anginkan selama 4x24 jam, sedangkan untuk tangkai daun belimbing wuluh pertama-tama dicuci bersih terlebih dahulu, kemudian dikeringkan dan dipotong-potong agar lebih mudah untuk tahap preparasi berikutnya. Setelah buah dan tangkai daun kering, kedua macam sampel tersebut kemudian ditumbuk hingga didapatkan serbuk dari buah dan tangkai daun. Untuk mendapatkan simplisia buah dan tangkai

daun belimbing wuluh, hasil tumbukan buah dan tangkai daun disaring sehingga serbuk dapat terpisah dari sisa bagian yang belum halus.

2.2.3. Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan untuk mengetahui kadar saponin secara kualitatif dilakukan dengan metode yang dideskripsikan oleh Suharto *et al.* (2012). Uji kadar saponin secara kualitatif tersebut terdiri dari uji busa dan uji warna.

Uji Busa

Simplisia sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan aquades 10 ml, dikocok dan ditambahkan satu tetes larutan asam klorida 2 N. Tabungreaksi tersebut didiamkan dan diperhatikan ada atau tidak adanya busa stabil. Sampel mengandung saponin jika terbentuk busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik.

Uji Warna

Simplisia sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisikan kloroform 10 ml, dipanaskan selama 5 menit dengan penangas air sambil dikocok. Selanjutnya, ditambahkan beberapa tetes pereaksi LB. Jika terbentuk cincin coklat atau violet maka menunjukkan adanya saponin triterpen, sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan adanya saponin steroid.

2.2.4. Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Sebanyak 10 g simplisia dari buah belimbing wuluh (*A. bilimbi*) dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian direndam dengan metanol sebanyak 60 ml. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan selama 3 hari dengan sesekali dikocok. Selanjutnya, hasil ekstrak disaring untuk memperoleh filtrat I dan simplisia yang telah diekstrak (debris). Debris diekstrak kembali dengan methanol sebanyak 40 ml dan didiamkan selama 2 hari dengan sesekali dikocok. Hasil ekstrak (filtrat II) dicampurkan dengan filtrat I, sehingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair kemudian dimasukkan ke dalam mangkuk dan dievaporasi di almari maserasi hingga diperoleh ekstrak kental. Hal yang sama juga dilakukan untuk tangkai daun dan buah belimbing wuluh.

2.2.5. Isolasi Senyawa Saponin dengan KLT preparative

Pemisahan senyawa saponin dalam penelitian ini menggunakan eluen kloroform : methanol : air (13:7:2) lapisan bawah (Harborne *cited* Suharto *et*

al., 2012). Lempeng preparatif silika gel 60 F254 Merck disiapkan dengan ukuran panjang 20 cm dan lebar 20 cm. Ekstrak kental dari buah belimbing wuluh (*A. bilimbi*) yang telah dilarutkan dengan alkohol 95% ditotolkan sepanjang lempeng tepi bawah dan diangin-anginkan beberapa saat. Lempeng dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi eluen yaitu campuran homogen lapisan bawah pelarut antara kloroform: metanol: aquades (13:7:2). Lempeng dibiarkan terelusi hingga eluen mencapai batas atas lempeng kemudian dikeluarkan dan dikeringkan di udara. Pengamatan bercak menggunakan lampu UV 254 dan 366 nm. Lempeng juga disemprotkan pereaksi LB (Liebermann Burchard) pada kedua bagian tepi dan bagian tersebut dipanaskan dengan *hair dryer* untuk memperjelas warna bercak yang terbentuk. Bercak yang terbentuk pada bagian tepi lempeng dihubungkan dengan garis dari tepi satu ke tepi lainnya. Bagian dalam garis dikerok dengan membuang bagian yang telah dipanaskan dan dilarutkan dengan alkohol 95% sebagai isolat. Hal yang sama juga dilakukan untuk daun dan tangkai daun belimbing wuluh).

2.2.6. Pengukuran Kadar Senyawa Saponin dengan Spektrofotometri UV-Vis

Isolat yang diperoleh dari hasil KLT preparatif diukur secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis. Isolat sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam kuvet spektrofotometer UV-Vis. Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 209 nm yang merupakan panjang gelombang maksimal untuk senyawa saponin (Suharto *et. al.*, 2012).

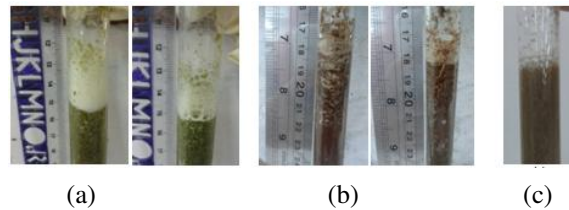
2.2.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan ANAVA untuk menguji beda kadar saponin dari ketiga organ tumbuhan saponin yaitu buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

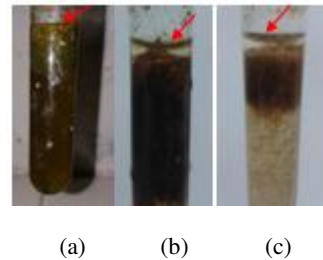
Pengujian kandungan saponin dalam buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh (*A. bilimbi*) secara kualitatif dilakukan dengan uji busa, uji warna dan KLT preparatif, sedangkan pengujian kandungan saponin secara kuantitatif dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis.

Berdasarkan hasil uji kualitatif busa terlihat bahwa sampel mengandung saponin dengan terbentuknya busa stabil dengan ketinggian 1-3 cm selama 30 detik (Gambar 1).



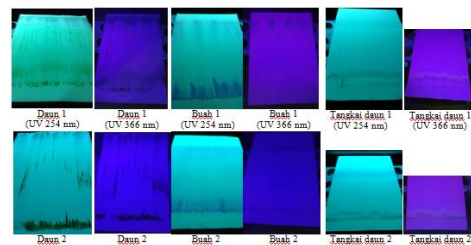
Gambar 1. Pembentukan busa saponin. Hasil uji busa pada daun (a); tangkai daun (b); dan buah (c) belimbing wuluh menunjukkan reaksi positif sehingga ketiga sampel organ tumbuhan tersebut mengandung saponin berdasar hasil uji kualitatif busa.

Dasar reaksi uji busa adalah sifat senyawa saponin yang mudah larut dalam air dan menimbulkan busa ketika dikocok. Fungsi air adalah sebagai pelarut, sedangkan HCl 2 N berfungsi sebagai pereaksi (Suharto *et al.*, 2012). Hasil uji kualitatif warna menunjukkan bahwa sampel mengandung saponin triterpen dengan terbentuknya cincin coklat (Gambar 2).



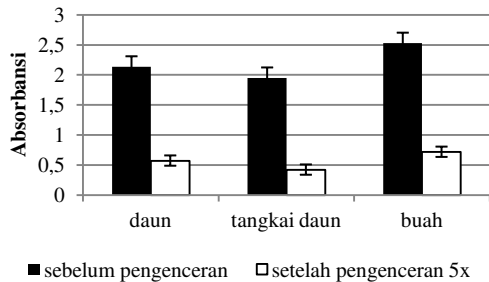
Gambar 2. Pembentukan cincin coklat pada uji warna saponin. Hasil uji warna pada daun (a); tangkai daun (b); dan buah (c) belimbing wuluh menunjukkan reaksi positif ditandai dengan adanya cincin coklat sehingga ketiga sampel organ tumbuhan tersebut mengandung saponin triterpen.

Pemisahan senyawa saponin dalam penelitian ini menggunakan metode KLT dengan eluen kloroform : methanol : air (13:7:2) lapisan bawah (Harborne *cited* Suharto *et al.*, 2012). Hasil KLT kemudian diamati di bawah lampu UV 254 dan 366 nm. Saponin terlihat sebagai bercak coklat atau ungu sesuai dengan hasil uji warna (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Isolasi senyawa saponin belimbing wuluh pada KLT. Bercak coklat dan ungu menunjukkan keberadaan senyawa kolompok saponin.

Hasil spektrofotometri saponin buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh (*A. bilimbi*) ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Nilai absorbansi sampel belimbing pada panjang gelombang 209 nm. Absorbansi ditunjukkan pada kondisi sebelum pengenceran (a) dan setelah pengenceran 5x (b)

Dari Gambar 4 diketahui bahwa nilai absorbansi saponin tertinggi terdapat pada organ buah belimbing wuluh (*A. bilimbi*) yaitu sebesar 2,528. Nilai absorbansi saponin yang melebihi 2 menunjukkan kepekatan dari saponin terukur, sehingga pada penelitian ini kemudian dilakukan pengenceran sebanyak 5 kali dan diukur kembali nilai absorbansinya. Hasil spektrofotometri sampel setelah pengenceran menunjukkan bahwa nilai absorbansi saponin tertinggi terdapat pada buah yaitu sebesar 0,716 (sehingga diketahui bahwa kandungan saponin buah belimbing wuluh pada dasarnya adalah 5 kali dari nilai tersebut yaitu sebesar 3,582). Hasil ANAVA menunjukkan bahwa kadar saponin di tiga organ sebelum pengenceran berbeda sangat nyata sementara setelah pengenceran 5 kali. Dari hasil tersebut diketahui bahwa kandungan saponin tertinggi terdapat pada buah. Menurut Firdaus *et al.* (2014) sintesis saponin pada tumbuhan dilakukan di daun. Namun pada fase tertentu, misalnya pada saat pembungaan (*flowering*) dan perkembangan buah (*fruit bearing*) akumulasi saponin terjadi pada organ generatif (Liener, 2012). Buah merupakan salah satu organ generatif, maka akumulasi saponin tumbuhan belimbing wuluh pada masa perkembangan buah akan dialihkan ke organ buah tersebut.

Saponin yang terdapat pada belimbing wuluh adalah saponin triterpen dengan dihasilkannya cincin coklat pada uji warna saponin dengan reagen LB (Suharto *et al.*, 2012). Saponin triterpen dapat memberikan efek *antitussives* dan *expectorant* yang membantu menyembuhkan batuk (Eccles & Weber, 2009). Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan batuk yaitu *Bordetella pertussis* yang menyebabkan penyakit batuk rejan (Stanley, 2002) atau *Mycobacterium tuberculosis* yang menyebabkan penyakit batuk kronis pada penderita tuberkolosis

(Cheesbrough, 2006). Menurut Katzung dalam Hartini (2012) saponin merupakan senyawa yang memiliki tegangan permukaan yang kuat yang berperan sebagai antimikrobia dengan mengganggu kestabilan membrane sel bakteri yang menyebabkan lisis sel. Hal ini disebabkan karena saponin yang merupakan senyawa semipolar dapat larut dalam lipid dan air, sehingga senyawa ini akan terkonsentrasi dalam membrane sel microbia.

Saponin triterpen juga dapat mengobati hepatitis kronis dan menghambat pengikatan sel HIV-1 (Seigler, 1998). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ali *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh ternyata memiliki aktivitas sitotoksik, sehingga ekstrak buah belimbing wuluh berpotensi sebagai sumber senyawa bioaktif untuk terapi kanker. Hasil penelitian sebelumnya mengenai kandungan saponin batang pisang (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L) menunjukkan bahwa nilai absorbansi yang berkorelasi dengan kandungan saponin batang pisang adalah sebesar 2,754. Nilai absorbansi kandungan saponin buah belimbing wuluh pada penelitian ini adalah sebesar 3,582, sehingga kandungan saponin buah belimbing wuluh lebih tinggi dibandingkan kandungan saponin pada batang pisang.

Kemampuan saponin triterpen sebagai senyawa aktif tersebut dapat dikembangkan sebagai obat komersial alami. Buah belimbing wuluh yang merupakan organ pengakumulasi saponin dapat dimanfaatkan sebagai sumber saponin triterpen yang dapat dikembangkan menjadi obat komersial alami.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa buah, daun dan tangkai daun belimbing wuluh mengandung saponin triterpen. Kadar saponin tertinggi terdapat pada organ buah. Buah belimbing wuluh memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai sumber saponin triterpen yang dapat dikembangkan menjadi obat komersial alami.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Laboratorium Biokimia Universitas Gadjah Mada. Rifqy Baehaqi atas bantuannya dalam pengambilan sampel tumbuhan belimbing wuluh.

6. DAFTAR PUSTAKA

Ali, M. R., Hossain, M., Runa, J. F., Hasanuzzaman, M. (2013). Preliminary cytotoxic activity of different extracts of *Averrhoa bilimbi* (fruits). *International Current Pharmaceutical Journal*, 2(3), 83-84.

- Ardananuridin, A., Winarsih, S., & Widayat, M. (2004). Uji efektifitas dekok bunga belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella Typhi* secara in vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 20(1), 30-34.
- Calabria, L. M. (2008). *The Isolation and Characterization of Triterpene Saponins from Silphium and the Chemosystematic and Biological Significance of Saponins in the Asteraceae*. ProQuest.
- Cheesbrough, M. (2006). *District Laboratory Practice in Tropical Countries* (2nd ed). Cambridge University Press.
- Eccles, R. & Weber, O. (2009). *Common Cold*. London: Springer.
- Firdaus, S., Wahid, A., Javed, F., & Sadia, B. (2014) Changes in leaf phenolics concentrations determine the survival of evening primrose (*Oenothera biensis*) in various seasons. *Int. J. Agric. Biol*, 16, 819-824.
- Hawley, T. S. & Hawley, R. G. (2004). *Flow Cytometry Protocols*. Humana Press, Inc.
- Hikino & Kiso. (1988). in Seigler, D. S. (1998). *Plant Secondary Metabolism*. Springer Science & Business Media.
- Mursito, (2002). in Ardananuridin, A., Winarsih, S., & Widayat, M. (2004). Uji Efektifitas Dekok Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 20 (1), 30-34.
- Liener, I. (2012). *Toxic Constituents of Plant Foodstuff*. Elsevier.
- Salsa. (2003). in Ardananuridin, A., Winarsih, S., & Widayat, M. (2004). Uji Efektifitas Dekok Bunga Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 20 (1), 30-34
- Seigler, D. S. (1998). *Plant Secondary Metabolism*. Springer Science & Business Media.
- Siddique, K. I., Uddin, M. N., Islam, S., Parvin, S., & Shahriar, M. (2013). Phytochemical screenings, thrombolytic activity and antimicrobial properties of the bark extracts of *Averrhoa bilimbi*. *J App Pharm. Sci.*, 3 (03), 094-096.
- Stanley, J. (2002). *Essentials of Immunology and Serology*. Cengage Learning.
- Suharto, M. A. P., Edy, H. J., Dumanauw, J. M. (2012). Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dari ekstrak methanol batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Pharmacon Journal*, 1(2), 86-92.

