

## PENGARUH KOMBUCHA SARI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli*

Yuly Diyan Nur Fajriyah, Dwi Wahyuni, Siti Murdiah

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

E-mail: dwiwahyuniwiwik@gmail.com

### Abstract

*Kombucha is a fermented drink from nata kombucha starter which is symbiosis between Acetobacter sp. And Saccharomyces sp. Which were grown in medium of A. bilimbi. A. bilimbi kombucha produces various types of acids, enzymes, alcohol and vitamins in addition A. bilimbi fruit contain flavonoids, alkaloids, triterpene saponins, terpenoids, and essential oil. This study aimed to analyze the influence of A. bilimbi kombucha on growth of E. coli. This kombucha has an antibacterial activity on E. coli growth. E. coli is a diarrhea causing bacterium. Concentration of kombucha used were 25%; 27.5%; 30%; 32.5%, and 35%. Antibacterial test using a pour plate method. Analyzise tested using one way ANOVA and followed by post hoc test LSD with 95% level of confidence. This research showed that Averrhoa bilimbi kombucha perform antibacterial activity against E. coli and at concentration of 35% kombucha buluh perform inhibition which different significantly ( $p > 0.05$ ).*

*Keywords: A. bilimbi, A. bilimbi kombucha, E. coli.*

### 1. PENDAHULUAN

*Kombucha* merupakan minuman hasil fermentasi dari starter *kombucha* berupa nata yang berasal dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. dengan medium yang digunakan untuk membuat minuman sehari-hari seperti teh, kopi, dan rosella (Darwindra, 2008). Terdapat beberapa penelitian telah dilakukan berbagai inovasi untuk media *kombucha* yang dapat dikonsumsi oleh manusia dan hanya untuk mengetahui mutu nata *kombucha* yang dibuat seperti sari nanas dan sari salak (Lisa, 2009; Permadiningtyas, 2011)

*Kombucha* adalah fermentasi minuman berpengaruh sehat bagi tubuh. Alasan pemanfaatan buah belimbing wuluh untuk medium *kombucha* adalah karena memiliki kandungan kimiawi kompleks daripada kandungan pada teh. Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman buah yang banyak ditemui sebagai tanaman pekarangan mudah ditanam dan tidak memerlukan perawatan khusus sehingga kemampuannya dalam menghasilkan buah sepanjang tahun terbuang sia-sia. Hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak kental metanol buah

belimbing wuluh diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri dengan kandungan utamanya adalah flavonoid. Senyawa-senyawa tersebut dapat bersifat antifungi dan antibakteri (Rahayu, 2013).

Buah belimbing wuluh bermanfaat bagi masyarakat terutama dalam pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri seperti diare. Bakteri yang menyebabkan diare adalah *E. coli*. Bakteri *E. coli* termasuk bakteri patogen (Anggraeni, 2008). Selama ini masyarakat umumnya menanggulangi diare dengan mengkonsumsi obat sintetik. Penggunaan obat sintetik dapat menimbulkan efek samping yang lebih banyak dibandingkan obat tradisional. Efek samping penggunaan obat sintetik antara lain: reaksi alergi, reaksi toksik, dan perubahan alergi metabolik sehingga masyarakat perlu suatu antibakteri herbal baru tanpa adanya efek samping. Berdasarkan hal tersebut, peneliti memilih *E. coli* sebagai bakteri uji pada penelitian uji daya antibakteri air *kombucha* karena bakteri yang dapat merugikan setidaknya harus dihambat ataupun dikendalikan pertumbuhannya.

## 2. METODE PENELITIAN

### Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Jember, Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember dan dilaksanakan mulai bulan Februari 2015 sampai bulan Mei 2015.

### Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah inkubator, *laminar air flow*, tabung rekasi, *beaker glass*, cawan petri, evendrop, bunsen, tip, ose, kertas kayu dan aluminium foil. Bahan yang digunakan adalah buah belimbing wuluh, kultur *kombucha*, biakan bakteri *E. coli*, medium NA (*Nutrient Agar*), medium NB (*Nutrient Broth*).

### Prosedur Penelitian

Prosedur Penelitian ini meliputi persiapan penelitian yang terdiri dari sterilisasi alat, pembuatan medium, identifikasi bakteri *E. coli*, identifikasi starter *kombucha*, pembuatan inokulum, pembuatan suspensi bakteri *E. coli*, pengamatan kurva pertumbuhan bakteri *E. coli*, dan pembuatan air *kombucha* sari buah belimbing wuluh dengan lama fermentasi 14 hari lalu pembuatan sumuran pada medium cawan petri dengan metode *pour plate*. Data diameter zona hambat dianalisis dengan uji statistik *One-Way* (ANOVA) dengan derajat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui adanya pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*. Analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jika hasil anova menunjukkan hasil yang signifikan.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Pembuatan Kombucha Sari Buluh

Minuman *kombucha* sari buluh yang dibuat mempunyai komposisi 250 gr buah belimbing wuluh yang berwarna hijau segar dan berbentuk bulat panjang yang diblender dan disaring ampasnya hingga menghasilkan 200 ml sari buluh, 20 gr gula, dan 20 ml starter *kombucha*. Minuman herbal *kombucha* sari buluh dapat disimpan hingga 14 hari agar menghasilkan rasa manis keasaman karena

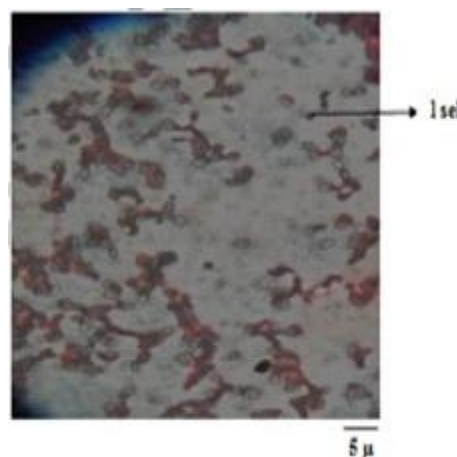
gula masih belum sempurna dioksidasi oleh dua organisme yang terdapat pada *kombucha*..



Gambar 1. Kombucha Sari Buluh

### Hasil Identifikasi Bakteri *E. coli*

Identifikasi bakteri *E. coli* dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang akan digunakan dalam penelitian adalah bakteri *E. coli* dan tidak terkontaminasi oleh bakteri lainnya. Hasil dari pewarnaan Gram yang diamati di bawah mikroskop menunjukkan bahwa sel bakteri berwarna merah dan berbentuk batang. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* yang diujikan tergolong dalam bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar



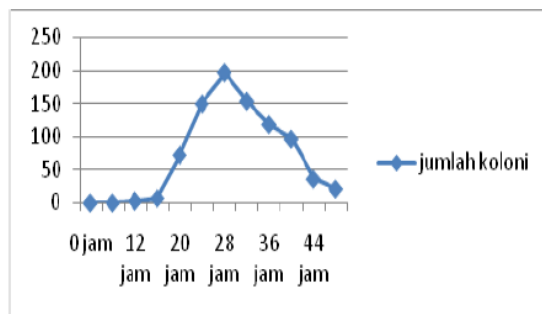
Gambar 2. Sel Bakteri *E. coli* Perbesaran 10x100

Pada uji biokimia terdapat 3 macam pengujian yaitu uji pembentukan katalase, uji reduksi nitrat, dan uji pembentukan amonia. Uji pembentukan katalase menunjukkan hasil positif, yaitu bakteri yang akan digunakan dalam penelitian dapat membentuk katalase

yang ditandai dengan timbulnya gelembung-gelembung udara. Uji reduksi nitrat menunjukkan hasil positif, yaitu bakteri yang akan digunakan dalam penelitian dapat mereduksi nitrat yang ditandai dengan terbentuknya warna merah pada tabung berisi biakan bakteri. Uji pembentukan amonia menunjukkan hasil positif, yaitu bakteri yang akan digunakan dalam penelitian dapat menghasilkan amonia yang ditandai dengan perubahan warna kertas lakmus merah menjadi biru.

### Hasil Pengamatan Pertumbuhan Bakteri *E. coli*

Pengamatan kurva pertumbuhan bakteri uji bertujuan untuk mengetahui waktu pertumbuhan optimum bakteri uji. Hasil pengamatan kurva pertumbuhan bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini.

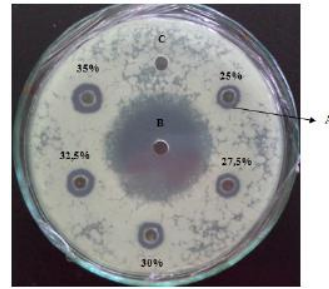


Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri *E. coli*

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan bahwa waktu pertumbuhan optimum bakteri adalah pada 24 jam. Parameter pengaruh kombucha sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* ditunjukkan berupa zona bening di sekitar sumuran pada medium NA cawan petri sebagai lebar zona hambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Serial konsentrasi air kombucha sari buluh yaitu 25%; 27,5%; 30%; 32,5%; dan 35%. Pada uji akhir ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Berdasarkan hasil perhitungan lebar zona hambat serial konsentrasi air kombucha sari buluh terhadap pertumbuhan *E. coli* menunjukkan bahwa konsentrasi 25% merupakan daya hambat terendah dari air kombucha sari buluh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Lebar zona hambat ditunjukkan dengan adanya zona

bening di sekitar sumuran seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil uji daya hambat kombucha sari buluh terhadap bakteri *E. coli*. (A) Zona bening di sekitar sumuran pada beberapa konsentrasi perlakuan, (B) kloramfenikol 1% (K+), (C) akuades (K- (sumber: koleksi pribadi).

Adanya zona bening di sekitar sumuran menunjukkan bahwa adanya penurunan jumlah sel bakteri yang tumbuh pada medium karena aktivitas senyawa air kombucha sari buluh. Penelitian menganalisis data dengan menggunakan uji ANOVA dengan hasil.

Berdasarkan Tabel 4.6, diperoleh nilai probabilitas signifikansi sebesar 0.00 oleh karena itu nilai probabilitas  $< 0,05$  dan dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc* dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) sehingga dapat dikatakan bahwa adanya pengaruh yang signifikan tidak berbeda nyata antar masing-masing konsentrasi air kombucha sari buluh terhadap pertumbuhan *E. coli*. Hasil statistik menunjukkan bahwa air kombucha sari buluh dengan konsentrasi 35% mempunyai daya hambat yang paling efektif berbeda nyata signifikan antar masing-masing konsentrasi sehingga konsentrasi 35% dapat direkomendasikan untuk pengobatan diare.

### Pembahasan

Penelitian pengaruh kombucha sari buluh terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode sumuran dengan diameter 0,5 cm secara *pour plate* untuk mengetahui serial konsentrasi terendah yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu serial konsentrasi 25%; 27,5%; 30%; 32,5%; dan 35%, kontrol positif berupa kloramfenikol 1% dan kontrol negatif berupa akuades dengan pengulangan 3 kali. Hasil uji ini menunjukkan bahwa pada

konsentrasi 25% merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan rerata lebar zona hambat 0,24 cm dan konsentrasi tertinggi 35% dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan rerata lebar zona hambat 0,42 cm. Pada uji akhir juga sumuran diisi serial konsentrasi dari air kombucha sari buluh berbeda dengan volum 25 µl dan diameter sumuran 0,5 cm. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi serial konsentrasi yang diberikan, maka jumlah zat terlarut dan senyawa maupun asam asetat yang terkandung dalam air kombucha sari buluh lebih banyak dibandingkan dengan serial konsentrasi yang lebih rendah. Semakin tinggi konsentrasi air kombucha sari buluh, maka semakin tinggi pula kandungan senyawa yang ada di dalamnya sehingga mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* pada media NA yang ditunjukkan dengan terdapatnya zona habat.

Air Kombucha sari buluh terasa manis karena diberi gula dan dalam proses fermentasi banyak terjadi perubahan struktur kimia yang lebih sederhana. Senyawa-senyawa fruktosa akan menjadi glukosa karena adanya aktivitas dari dua mikroorganisme dari kombucha sari buluh itu sendiri, yaitu *Acetobacter* sp. dan *Saccharomyces* sp.. Fermentasi kombucha sari buluh juga menghasilkan alkohol yaitu golongan metanol yang bisa bersifat antibiotik. Khasiat antibiotik dari sifat metanol kombucha sari buluh lebih efektif dalam menghambat maupun mematikan bakteri *E. coli*.

Air kombucha sari buluh menghasilkan berbagai asam-asam yaitu asam asetat, asam laktat, asam malat, asam oksalat, asam karbonat, asam glikonat, asam butirat, asam folat, asam glukoronat, asam kandroitin sulfat, asam hialuronat, dan asam usnat. Asam asetat adalah bagian terbesar dari asam yang dihasilkan selama proses fermentasi. Mekanisme penghambatan asam asetat terhadap pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara menembus membran sel bakteri. Semakin banyak ion H<sup>+</sup> asam asetat yang masuk maka bentuk tidak terurai dari asam asetat akan larut dalam lemak sehingga dapat menembus membran sel bakteri. Buah belimbing wuluh diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid,

alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri (Rahmawati, 2009).

Kandungan kimia buah belimbing wuluh saat fermentasi kombucha sari buluh masih tetap ada dan tidak dapat terurai akibat fermentasi. Fermentasi hanya menguraikan senyawa dari starter kombucha yang telah diberi karena bakteri dan khamir kombucha tidak mampu untuk memecah golongan alkaloid dari buah belimbing wuluh tersebut karena senyawa yang terkandung terlalu besar untuk diuraikan sehingga dapat dikatakan komposisi senyawa alkaloid tetap. Buah belimbing wuluh sendiri diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri (Rahmawati, 2009). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam buah belimbing wuluh adalah tipe luteolin dan apigenin. Senyawa kimia yang dominan terbentuk pada kombucha sari buluh adalah asam asetat yang diklasifikasikan sebagai asam lemah karena ketika dilarutkan ke dalam larutan cair, komponen didalamnya tidak seluruhnya terurai. Flavonoid merupakan senyawa aktif terbesar yang berfungsi mengganggu sintesis dinding bakteri sehingga terjadi kebocoran plasma yang diakhiri dengan lisisnya bakteri, selain itu flavonoid berfungsi menghambat DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase bakteri (Robinson, 1995). Bakteri gram negatif mengandung sejumlah besar lipoprotein, lipopolisakarida, dan lemak (Schagel, 1993). Adanya lapisan-lapisan dinding sel pada bakteri *E. Coli* mempengaruhi aktivitas kerja dari zat antibakteri.

Pertumbuhan sel bakteri dapat terganggu oleh komponen fenol dari buah belimbing wuluh memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan merusak membran sel (Rahayu, 2013). Hasil uji ANOVA menyatakan bahwa nilai probabilitas signifikansi sebesar 0,00 oleh karena itu nilai probabilitas < 0,05 dan menyatakan bahwa terdapat pengaruh serial konsentrasi air kombucha sari buluh terhadap pertumbuhan *E. coli* yang signifikan tidak berbeda nyata antar masing-masing konsentrasi dan dengan demikian, maka dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc test* dengan Beda Nyata Terkecil (Tabel 1). Uji ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif terdapat pengaruh perbedaan antar konsentrasi air

*kombucha sari buluh* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan sebagai acuan dalam menentukan perlakuan yang paling efektif terhadap antar perlakuan. Hasil uji BNT menyatakan bahwa pada konsentrasi 35% mempunyai daya hambat paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang berbeda nyata/ berbeda signifikan terhadap semua serial konsentrasi air *kombucha sari buluh*.

Air *kombucha sari buluh* memiliki senyawa kimia yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap bakteri *E. coli* yang dapat menyebabkan diare. Diare adalah sebuah penyakit dimana penderita mengalami buang air besar yang sering dan masih memiliki kandungan air berlebihan. Menurut Muscthler (1991) menyatakan penderita diare banyak menggunakan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia dan tanaman herbal (Muscthler, 1991). Akan tetapi peneliti memberikan suatu inovasi baru yaitu *kombucha sari buluh* yang merupakan minuman herbal obat diare dengan rasa manis keasaman. Minuman ini tidak dapat diminum sehari-hari akan tetapi dapat diminum untuk menanggulangi penyakit diare akibat bakteri *E. coli*.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa adanya pengaruh air *kombucha sari buah belimbing wuluh* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang signifikan tidak berbeda nyata antar masing-masing konsentrasi. Konsentrasi 35% mempunyai daya hambat paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang berbeda signifikan terhadap semua serial konsentrasi. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) air *kombucha sari buah belimbing*

*wuluh* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* pada konsentrasi 25% dengan rerata diameter zona hambat yaitu 2,4 cm.

#### REFERENSI

- Anggraeni, M. D., 2008. *Uji Disinfeksi Bakteri E. coli menggunakan Kavitasi Water Jet*. Depok: UI.
- Darwindra, Haris Dianto, 2008. *kombucha tea*. (online).  
<http://caripdf.com/download/index.php?name=teh%20kombucha&file=harisdianto.files.wordpress.com/2001/01/kombucha>.
- Lisa, Y. 2009. *Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Mutu kombucha Sari Nanas (Ananas comosus)*. Universitas Andalas.
- Muscthler, 1991. *Dinamika Obat*. Terjemahan M. B. Widiyanto dan A.S Ranti. Penerbit ITB. Bandung.
- Permadiningtyas, S. 2011. *Karakteristik Fisik, Kimia, dan Organoleptik kombucha Salak (Sallaca zallaca) sebagai Pengaruh dari Umur Kultur kombucha dan Lama Fermentasi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Rahayu, Puji. 2013. *Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Buah Belimbing Wuluh (A. bilimbi) terhadap Pertumbuhan Candida Albicans*. UNHAS: Makasar.
- Rahmawati, A. 2009. *Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia)* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB.
- Schagel, G.H. 1993. *General Microbiology seventh edition*. Cambridge University Press, USA.