

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BELIMBING WULUH SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN PENYEBAB
PENYAKIT BUSUK LUNAK PADA BIBIT KRISAN**

**OLEH
MUHAMMAD BARI MUWARDI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2019

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK BELIMBING WULUH SEBAGAI
ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN PENYEBAB
PENYAKIT BUSUK LUNAK PADA BIBIT KRISAN**

**OLEH
MUHAMMAD BARI MUWARDI**

135040201111032

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG**

2019

SURAT PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan dosen pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 25 November 2019



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Uji Efektivitas Ekstrak Belimbing Wuluh Sebagai Antibakteri terhadap Patogen Penyebab Penyakit Busuk Lunak pada Bibit Krisan

Nama Mahasiswa : Muhammad Bari Muwardi

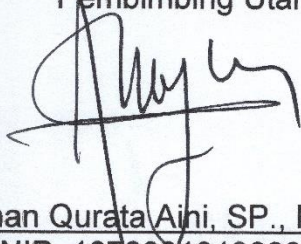
NIM : 135040201111032

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama



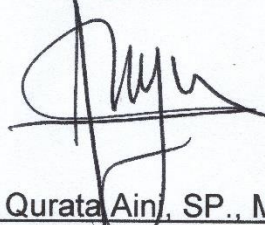
Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 197209191998021001

Pembimbing Pendamping



Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc
NIK. 2014098805042001

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 197209191998021001

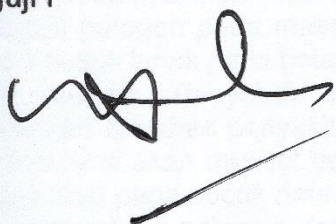
Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

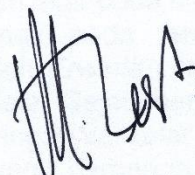
MAJELIS PENGUJI

Penguji I



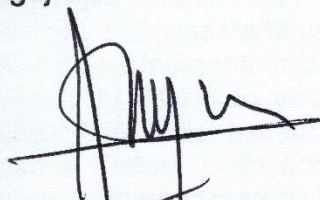
Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS
NIP. 195505221981031006

Penguji II



Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc
NIK. 2014098805042001

Penguji III



Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D
NIP. 197209191998021001

Penguji IV



Dr. Ir. Aminudin Affandi, MS
NIP. 195802081982121001

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

Muhammad Bari Muwardi 135040201111032. Uji Efektivitas Ekstrak Belimbing Wuluh Sebagai Antibakteri Terhadap Patogen Penyakit Penyebab Busuk Lunak Pada Bibit Krisan. Di bawah Bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc. sebagai Pembimbing Pendamping.

Tanaman krisan merupakan salah satu komoditas hortikultura yang penting. Budidaya krisan saat ini masih banyak ditemukan permasalahan adanya serangan patogen pada masa pembibitan yang menyebabkan kerusakan bibit berupa busuk lunak pada batang yang menyebabkan akar pada bibit krisan tidak dapat tumbuh. Penyebab terjadinya busuk lunak pada tanaman bunga merupakan ciri khas penyakit yang disebabkan oleh *Erwinia chrysanthemi*. *E. chrysanthemi* akan muncul dengan bermacam gejala. Gejala serangan diawali dengan layu pada pucuk daun dan menghitam. Jaringan vaskular batang dalam akan mengalami nekrosis dan jaringan vaskular yang berongga. Penggunaan pestisida kimia sintetis yang masih dijadikan sebagai keputusan utama dalam pengendalian penyakit serta pengaplikasiannya yang kurang bijaksana seringkali dapat memperburuk keadaan karena menyebabkan terjadinya resistensi patogen. Tanaman belimbing wuluh yang diketahui sebagai salah satu sumber alternatif pestisida yang aman dan ramah lingkungan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji dan menganalisis pengaruh kandungan antimikroba tanaman belimbing wuluh dalam mengendalikan penyakit busuk lunak yang disebabkan *E. chrysanthemi*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Hama dan Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Kima Analisis Instrumentasi, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang. Penelitian ini dilakukan selama tujuh bulan yaitu dimulai Maret 2018 hingga Oktober 2018. Isolat bakteri yang digunakan pada penujian ini didapatkan dari *Indonesia Culture Collection*, LIPI Bogor. Metode yang digunakan pengujian antimikroba dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer yang dimodifikasi dengan variasi konsentrasi mulai dari 10-90% dengan interval tiap konsentrasi perlakuan sebesar 10%. Analisis fitokimia ekstrak belimbing wuluh yang digunakan ada dua, yaitu secara kualitatif dan kuantitatif yang bertujuan mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak.

Hasil pengujian antimikroba terdiri dari dua jenis, yaitu buah dan daun. Kedua ekstrak belimbing wuluh menunjukkan hasil positif memiliki aktivitas antibakteri. Hasil ekstrak daun menunjukkan kemampuan daya hambat lebih tinggi dengan zona hambat 10,68 mm dibandingkan dengan kemampuan buah dengan zona hambat 9,43 mm. Tanaman belimbing wuluh diduga memiliki sifat antimikroba bakteriostatik, hal ini ditunjukkan dari kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pada pengujian kualitatif kandungan fitokimia memperlihatkan adanya senyawa flavonoid, saponin, dan tanin pada ekstrak buah dan daun belimbing wuluh, sedangkan hasil pada pengujian kuantitatif jumlah flavonoid menunjukkan ekstrak daun lebih tinggi dengan 3.129 µg/g dan ekstrak buah 426 µg/g. Hal ini mengindikasikan bahwa pelarut ekstrak yang digunakan memiliki kepolaran yang tinggi sehingga efektif mengikat senyawa biokatif pada tanaman.

SUMMARY

Muhammad Bari Muwardi 135040201111032. Effectivity Assay of *Averrhoa bilimbi* Extract as Antibacterial Against Pathogenic Disease Causes Soft Rot in Chrysanthemum Seeds. Under the Guidance of Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. as First Advisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc. as Supervising Counselor.

Chrysanthemum is kind of importantly horticulture commodities. The current cultivation of chrysanthemum still found a lot of issue such as a pathogenic assault during seedling stage that caused seeds damage like soft rot at stem that caused seeds roots of chrysanthemum could not grow up. Soft rot of fleshy plant organs of floral part is typically caused by the *Erwinia chrysanthemi*. *E. chrysanthemi* would be shown up with a difference symptoms. Symptoms may appear with initial witting of top leaves and external darkening or discoloured vascular system at stem base internal necrosis and hollowing of vascular tissues. The over use of pesticide as a particularly decision and applicated with less farseeing may causes pathogenic resistances. *Averrhoa bilimbi* Linn. plants which known as biocide can be alternative good source of chemical pesticide due to their safe and eco-friendly. The purpose of this research is to study activity and analysis antimicrobial properties of *A. bilimbi* to against soft rot pathogenic casued by *E. chrysanthemi*.

The research was conducted at Microbiological Laboratory, Faculty of Medicine, Plant Disease Laboratory Department of Plant Pest and Disease, Faculty of Agricultural Universitas Brawijaya, and Instrumental Chemical Analysis, Departemen of Chemical Engineering, National Polytechnic of Malang from March 2018 to October 2018. Bacterial isolated used in this study obtained of Indonesian Culture Collection (InaCC), Indonesian Institute of Sciences (LIPI). The method used is antimicrobial assay using disc diffusion assay modified Kirby-Bauer method with various concentration range 10 to 90% and interval per conenctrate is 10%. Phytochemical analysis of *A. bilimbi* extract used consist of two type, quantitative and qualitative to identify bioactive substances of plant extract.

The result of antimicrobial assay of consist two part of plants, fruit and leaves. Both extracts exhibited positive antibacterial acitivity. Leaves extract was comparatively showed higher inhibitory zone against *E. chrysanthemi* by 11,68 to fruits extract inhibitory zone by 9,43 mm. *A. bilimbi* has indicates as a bacteriostatic agent because this antimicrobial agent that only inhibit bacterial growth. The result of phytochemical screening of extracts presence of antimicrobial compounds such as flavonoids, saponin, and tannin in fruits and leaves extract of *A. bilimbi*. The result of quantitative test of total flavonoids compound, leaves extract showed was also higher by 3.129 µg/g to fruits extract by 426 µg/g. Ethanol 96% as solvent extracts of *A. bilimbi* were good source of different classes compounds. This indicate these solvent are effective to isolate bioactive compounds due to their high polarity and flavonoid compounds in leaves extract more soluble than fruits extract.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Efektivitas Ekstrak Belimbing Wuluh sebagai Antibakteri terhadap Patogen Penyakit Penyebab Busuk Lunak pada Bibit Krisan”.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada semuapihak yang membantu dalam penyusunan skripsi penelitian ini, dan secara khusus penulissampaikan kepada:

1. Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama atas pengarahan, saran serta bimbingannya
2. Ibu Restu Rizkyta Kusuma, SP., MP., M.Sc. selaku dosen pembimbing pendamping atas pengarahan, saran serta bimbingannya
3. Kedua orangtua, kakak dan adik saya yang selalu medo'akan dan memberi motivasi juga arahan
4. Teman-teman yang selalu membantu dan memberi semangat dan saran kepada penulis dalam penyusunan skripsi

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan manfaat dalam bidang pertanian serta memberikan sumbangan pemikiran untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Cilegon pada tanggal 15 November 1994 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara dari Bapak Sudjadiarto dan Ibu Munawaroh.

Kakak penulis bernama Astari Mutiarahim, dan adik-adik penulis bernama Cindy Nurshillah. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Center 4 Cilegon pada tahun 2001 sampai tahun 2007, kemudian melanjutkan di SMP Negeri 2 Cilegon pada tahun 2007-2010. Pada tahun 2010 sampai tahun 2013 penulis menempuh studi di SMA Negeri 3 Cilegon. Pada tahun 2013 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif Forum Daerah. Penulis pernah menjadi anggota Divisi Hubungan Masyarakat pada tahun 2015. Penulis juga pernah aktif di Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) AIESEC Universitas Brawijaya pada tahun 2013 sebagai anggota departemen *VP Marketing and Communication*. Selain itu di tahun yang sama, penulis juga pernah menjadi anggota di Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Forum Mahasiswa Studi Bahasa Inggris Universitas Brawijaya. Selain itu, penulis juga pernah mengikuti kegiatan magang kerja di Kelompok Tani Sumbermakmur II yang memiliki komoditi unggulan sebagai penghasil beras putih, merah, dan hitam organik yang berlokasi di desa Sumberngepoh, Kecamatan Lawang, Kabupaten Malang selama 3 bulan.

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
SURAT PERNYATAAN.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
RINGKASAN.....	v
SUMMARY.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
RIWAYAT HIDUP.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
Latar Belakang.....	1
Rumusan Masalah.....	2
Tujuan Penelitian.....	3
Hipotesis.....	3
Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
Penyakit Busuk Lunak Pada Tanaman Krisan.....	5
Pestisida Nabati.....	7
Belimbing wuluh.....	8
Ekstraksi Bahan Aktif.....	10
Metode Ekstraksi.....	10
Pelarut Ekstraksi.....	11
Senyawa Fitokimia.....	11
Senyawa Metabolit Sekunder.....	12
III. METODE PENELITIAN.....	15
Tempat dan Waktu.....	15
Alat dan Bahan.....	15
Metode Penelitian.....	16
Analisis data.....	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
Uji Efektivitas Ekstrak Belimbing Wuluh Terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogen Busuk Lunak <i>Erwinia chrysanthemi</i>	26
Hasil Analisis Kualitatif Senyawa Fitokimia Ekstrak Belimbing Wuluh.....	33
Hasil Analisis Kuantitatif Ekstrak Belimbing Wuluh.....	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42

Kesimpulan.....	42
Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR GAMBAR

Nomor

Halaman

Teks

1.	Variasi Mahkota Bunga Krisan	4
2.	Gejala Hawar Pada Daun Krisan	6
3.	Morfologi Tanaman Belimbing wuluh	8
4.	Struktur Kimia Senyawa Flavonoid	13
5.	Klasifikasi Struktur Kimia Senyawa Tanin	14
6.	Struktur Kimia Senyawa Saponin	14
7.	Alur Tahapan Penelitian	19
8.	Skema Pengukuran Zona Dambat	24
9.	Hasil Uji Daya Hambat Terendah dan Tertinggi Pada Ekstrak Belimbing Wuluh	27
10.	Hasil Analisis Kualitatif Flavonoid Pada Ekstrak Belimbing Wuluh ..	34
11.	Mekanisme Reaksi Pembentukan Garam Flavilium	35
12.	Hasil Analisis Tanin Belimbing Wuluh Dengan Reagen FeCl ₃	36
13.	Reaksi Antara Tanin dan FeCl ₃	36
14.	Hasil Uji Saponin Belimbing Wuluh Metode Forth.....	38
15.	Reaksi Hidrolisis Saponin Dalam Air	38

Lampiran

1.	Hasil Perbanyakan Isolat Murni Bakteri Patogen Busuk Lunak <i>E. chrysanthemi</i>	48
2.	Pembuatan Suspensi Bakteri Dengan Seri Pengenceran 10 ⁸ cfu/ml	48
3.	Proses Ekstraksi Dengan Rotary Vacuum Evaporator	49
4.	Hasil Ekstraksi Dengan Metode Maserasi	49
5.	Hasil Uji Efektivitas Terhadap pertumbuhan Bakteri <i>E. chrysanthemi</i> 3HSI.....	53

DAFTAR TABEL

Nomor

Halaman

Teks

1.	Perlakuan Uji Ekstrak Tanaman Belimbing Wuluh Secara <i>In Vitro</i>	23
2.	Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri	24
3.	Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Buah dan Daun Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri Patogen <i>E. chrysanthemi</i>	26
4.	Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun dan Buah Belimbing Wuluh	33
5.	Hasil Pengukuran Absorbansi Flavonoid Total Belimbing Wuluh	39
Lampiran		
1.	Hasil Pengamatan Zona Hambat Selama Tiga Hari Setelah Inokulasi	50
2.	Hasil Rerata Zona Hambat Total Selama Tiga Hari Inokulasi	51
3.	Analisis Ragam Uji Daya Hambat 1 HSI	51
4.	Analisis Ragam Uji Daya Hambat 2 HSI	51
5.	Analisis Ragam Uji Daya Hambat 3 HSI	52
6.	Analisis Ragam Total Flavonoid Ekstrak Belimbing Wuluh	52
7.	Hasil Rekapitulasi Pengukuran Total Flavonoid	53

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman krisan, *Dendrathera grandiflora* Tzelev. syn. *Chrysanthemum murifolium* Ram. (Asteraceae) merupakan salah satu bunga yang dibudidayakan dan berpotensi untuk dijual sebagai bunga pot, bunga potong atau sebagai materi hiasan taman. Bunga (Salinger, 1985). Budidaya tanaman krisan saat ini masih ditemukan berbagai permasalahan seperti adanya serangan patogen pada masa pembibitan yang menyebabkan kerusakan bibit berupa busuk lunak pada batang dan menyebabkan akar pada bibit tanaman krisan tidak dapat tumbuh.

Bakteri *Erwinia chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* merupakan salah satu patogen dengan kisaran inang yang luas dan menjadi salah satu penyebab terjadinya busuk lunak pada bibit krisan (Barabote *et al.*, 2003). Bakteri dengan famili Enterobacteriaceae ini memiliki kisaran inang yang luas pada tanaman penting yang bernilai ekonomis (Grenier *et al.*, 2006). *E. chrysanthemi* merupakan patogen tular bibit atau benih (*seed-borne diseases*) (Elphinstone *et al.*, 2007). Bakteri ini sering muncul dengan gejala busuk batang (*stem rotting*) pada kondisi yang basah dan hangat. *E. chrysanthemi* merupakan bakteri yang lebih agresif menyerang tanaman karena mampu menyerang jaringan vaskular lebih cepat dibandingkan jenis bakteri spesies *Erwinia* lainnya (Elphinstone dan Toth 2007; Toth *et al.*, 2011). Hal ini dapat berakibat buruk pada pembibitan krisan karena dengan jarak tanam fase pembibitan yang rapat dapat meningkatkan resiko penyebaran patogen yang lebih cepat.

Penggunaan pestisida kimia sintetis yang masih dijadikan sebagai keputusan utama dalam mengendalikan penyakit serta pengaplikasiannya yang kurang bijaksana seringkali justru dapat memperburuk keadaan karena menyebabkan terjadinya resistensi patogen (Suprpta, 2003). Pengendalian dengan menggunakan pestisida kimia sintetis juga berdampak negatif bagi kesehatan manusia yang ada di sekitarnya. Oleh karena itu diperlukan pengendalian yang bersifat ramah lingkungan dan aman (Sofiana, 2001).

Pengendalian organisme pengganggu tanaman ramah lingkungan telah menjadi prasyarat utama dalam praktik budidaya tanaman (Chozin, 2006). Petani produsen (petani) masa kini dituntut untuk menggunakan sarana produksi yang ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan, sehingga perlu adanya teknologi alternatif pengendalian organisme pengganggu tanaman yang dilakukan.

Salah satu jenis tanaman tropis di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif antibakteri berbahan kimia organik ini yaitu tanaman belimbing wuluh *Averrhoa bilimbi* Linn. (Oxalidaceae). Tanaman belimbing wuluh merupakan tanaman tropis yang tumbuh subur sepanjang tahun di Indonesia. Pemanfaatan belimbing wuluh saat ini masih terbatas dan sebagian besar terbuang menjadi sampah organik. Pemanfaatan tanaman belimbing wuluh yang masih terbatas ini memiliki efek potensial untuk dimanfaatkan sebagai antibakteri.

Bagian tanaman yang umum digunakan adalah daun, bunga, kulit batang dan buah. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak buah dan daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *Bacillus cereus* dan Gram negatif *Citrobacter freundii* (Mokhtar *et al.*, 2016). Penelitian antibakteri ekstrak etanol belimbing wuluh terhadap bakteri *Erwinia* ini juga didukung oleh penelitian sebelumnya. Hal ini ditunjukkan bahwa ekstrak etanol dengan konsentrasi 2,4, dan 6 mg positif bersifat antibakteri dan menghasilkan zona hambat berturut-turut 9,10, dan 10,5 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Erwinia spp.* (Aziz *et al.*, 2014).

Tanaman belimbing wuluh teridentifikasi positif mengandung senyawa antibakteri flavonoid (Mokhtar *et al.*, 2016). Terkandungnya senyawa flavonoid pada bagian buah belimbing wuluh menjadi alasan ekstrak etanol belimbing wuluh bermanfaat untuk dikembangkan sebagai antimikroba. Penggunaan tanaman belimbing wuluh sebagai bakterisida nabati agen pengendalian patogen tanaman masih sangat terbatas. Pemanfaatan belimbing wuluh pada umumnya lebih banyak dikembangkan dalam bidang kedokteran dalam mengendalikan berbagai patogen manusia dan makanan. Pemanfaatan ekstrak daun dan buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 10-90% dengan interval perlakuan konsentrasi sebesar 10% diharapkan dapat memberikan informasi dasar dalam mengkaji tingkat efektivitasnya dalam mengendalikan pertumbuhan *E. chrysanthemi* sebagai patogen busuk lunak pada tanaman krisan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana tingkat efektivitas konsentrasi ekstrak buah dan daun belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri patogen *E. chrysanthemi*?
2. Apakah senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin, dan tanin yang bersifat sebagai antimikroba terkandung dalam ekstrak buah dan daun belimbing wuluh?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengkaji efektivitas ekstrak daun dan buah belimbing wuluh konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, dan 90% terhadap bakteri patogen busuk lunak *Erwinia chrysanthemi*.
2. Menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif senyawa metabolit sekunder yang meliputi flavonoid, saponin, dan tanin dalam kandungan ekstrak daun dan buah belimbing wuluh.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak daun dan buah belimbing wuluh 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, dan 90% efektif sebagai antibakteri patogen *E. chrysanthemi*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka zona hambat bakteri yang terbentuk semakin tinggi. Ekstrak buah dan daun belimbing wuluh teridentifikasi mengandung senyawa metabolit sekunder saponin, tanin, dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Serta ekstrak tanaman yang teridentifikasi memiliki kandungan total flavonoid yang lebih tinggi memiliki tingkat efektivitas yang lebih tinggi, dan zona hambat yang luas.

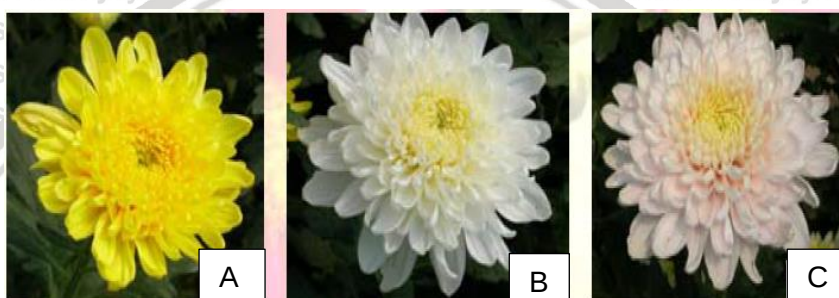
1.5 Manfaat

Hasil Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, petani, maupun akademis untuk menentukan penggunaan konsentrasi ekstrak daun dan buah belimbing wuluh yang paling efektif sebagai pengendalian alternatif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Erwinia chrysanthemi* patogen penyakit busuk lunak pada bibit krisan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Krisan

Deskripsi Tanaman Krisan. Krisan merupakan tanaman perennial berupa perdu. Tingginya sekitar 25-100 cm. Krisan berasal dari daratan Tiongkok yang mulai masuk ke Indonesia kisaran tahun 1800 (Sanjaya *et al*, 2015). Bagian tanaman Krisan terdiri dari akar serabut, batangnya tegak atau menyebar, bercabang dengan sedikit pilose, daunnya berbentuk bulat telur atau elips dan mahkota bunga bermacam-macam warna tergantung pada varietas (Simion, 2012).



Gambar 1. Variasi Mahkota Bunga Krisan (a) varietas Salzieta; bentuk bunga ganda; tipe bunga menyebar (*spray*); warna kuntum bunga kuning (b) dan (c) varietas Kusumapatria (Sanjaya *et al*., 2015).

Klasifikasi Tanaman Krisan. Klasifikasi krisan menurut Simion (2012) adalah sebagai berikut. Kingdom Plantae, divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, ordo Asterales; famili Asteraceae, genus *Chrysantemum*, spesies *Chrysantemum arcticum*, *C. cinerariifolium*, *C. majus*, *C. xmorifolium* R.

Pertumbuhan Tanaman Krisan. Tanaman krisan diperbanyak dengan menggunakan anakan, setek pucuk atau setek batang. Anakan krisan didapat dari tanaman induk. Klasifikasi yang baik untuk kebun induk krisan menurut Balithi (Balai Penelitian Tanaman Hias) adalah memiliki jarak tanam 10x13 cm dan 13x13 cm. Sejak awal tanam diberikan pupuk N dan K dalam bentuk cair masing-masing 200 ppm dan tambahan penyinaran minimum 100 lux selama 3-5 jam secara terus menerus di malam hari. Setelah bibit tumbuh segar, dilakukan pemotongan pucuk untuk merangsang pertumbuhan tunas (Sanjaya *et al*, 2015).

Pengambilan setek krisan harus dilakukan secara intensif untuk mempertahankan tanaman induk tetap berada pada stadia muda (*juvenile*). Setelah setek diambil kemudian disemai dalam media pasir. Bagian pangkal akar dioleskan dengan zat perangsang akar untuk mempercepat perakaran. Selama fase vegetatif, tanaman diberi penyinaran tambahan dengan intensitas cahaya

minimum 50-77 lux dan maksimum 200 lux. Intensitas cahaya ini bergantung kepada varietas yang ditanam. Selain penyinaran tambahan, diberikan juga pupuk N, P, dan K masing-masing 200 ppm dengan dosis 0,5-1 gram per tanaman (Sanjaya *et al*, 2015).

Bunga Krisan akan dipanen ketika telah mencapai fase mekar penuh. Daya simpan sekitar 1-14 hari, bergantung pada varietas dan kondisi lingkungan. Untuk mempertahankan kondisi Krisan yang sudah dipanen dapat diaplikasikan larutan pengawet yaitu gula (2-5%), 8-hydroxyquinoline sulfat (300-500 ppm) atau larutan nonkola (Sanjaya *et al*, 2015).

2.2 Penyakit Busuk Lunak Pada Tanaman Krisan

Bakteri penting penyebab penyakit busuk lunak pada tanaman kentang maupun pertanaman hortikultura yang lain adalah *Pectobacterium* (*Enterobacteriaceae*) dan *Erwinia* spp. (*pectinolytic*) yang direklasifikasi sebagai *Dickeya* spp. (Czajkowski *et al.*, 2014).

Gejala Busuk Lunak. Gejala penyakit busuk lunak pada tanaman krisan di lapangan yang disebabkan oleh *E. chrysanthemi* maupun *Pectobacterium* spp. sangat mirip. Kisaran gejala bergantung pada spesies, isolat, kondisi lingkungan dan jenis kultivar yang digunakan. Penyakit yang disebabkan oleh *E. chrysanthemi* (*Dickeya* spp.) pada kondisi basah dan hangat akan menunjukkan gejala busuk batang (*stem rotting*) yang mirip dengan gejala infeksi *Pectobacterium atrosepticum*. Tanaman yang terserang *P. atrosepticum* secara khas menunjukkan gejala *black leg* pada kondisi lingkungan yang dingin dan lembap, sedangkan gejala penyakit yang disebabkan oleh *Dickeya* spp. sebagian besar ditemukan pada kondisi hangat ketika suhu melebihi 25°C. Patogen *D. dianthicola* dan *D. solani* dapat berkembang dengan baik pada suhu 21 dan 27°C. Sedangkan *P. atrosepticum* dapat tumbuh pada suhu 21°C, namun tidak mampu berkembang pada suhu 27°C. *Dickeya* lebih agresif menyerang tanaman kentang dibandingkan *P. atrosepticum* karena mampu menyerang jaringan vaskular lebih cepat (Elphinstone dan Toth 2007; Toth *et al.*, 2011).

Gejala busuk lunak pada bibit krisan yang disebabkan oleh *Dickeya* spp. atau *Pectobacterium* spp. sangat mirip. Busuk lunak pada krisan berupa perubahan warna jaringan vaskular hingga pembusukan secara keseluruhan. Pada bagian tepi jaringan yang busuk akan berwarna hitam. Lesio biasanya pertama kali berkembang di lentisel, pada bagian menempelnya stolon atau pada

luka Penelitian terbaru di *Scottish Crop Research Institute* (SCRI) menunjukkan bahwa pada suhu yang lebih tinggi (27°C) *Dickeya* spp. menyebabkan busuk yang lebih parah dibandingkan *P. atrosepticum* dan memperlihatkan gejala busuk yang berwarna krem seperti keju (Drive 2007; Elphinstone dan Toth 2007; Toth et al., 2011).

Gejala awal pada daun bagian atas berupa layu dengan tepian daunnya mengering bahkan hingga pada keseluruhan daun. Gejala seperti ini akan terlihat pada daun di bagian bawah. Pada kasus yang ekstrim keseluruhan tanaman akan mengering. Seringkali hanya satu bagian batang saja yang menunjukkan gejala. Perkembangan gejala penyakit umumnya berhubungan dengan busuk lunak pada umbi yang menjadi indukan. Jaringan vaskular berwarna kecokelatan, perkembangannya dari bagian bawah menuju ke atas hingga akhirnya jaringan batang mengalami nekrosis. Pada bagian luar batang tetap terlihat hijau hingga daun menjadi layu secara keseluruhan. Pada kondisi hangat dan kering gejala biasanya akan terlihat ketika suhu udara mencapai 25°C (Drive 2007; Elphinstone dan Toth 2007; Toth et al., 2011).



Gambar 2. Gejala Hawar Pada Daun Krisan; terlihat pada bagian batang atas bagian daun menunjukkan gejala layu dengan tepian daunnya mengering (Penn State College, 2017).

Perkembangan Bakteri *Erwinia chrysanthemi*. Bakteri *E. chrysanthemi* merupakan Gram-negatif, anaerobik fakultatif, berbentuk batang (*rodshaped*) berukuran $1,1-3,8 \times 0,5-1 \mu\text{m}$, biasanya tunggal dan motil dengan beberapa flagel tipe peritrik. Bakteri ini bersifat oksidase-negatif, katalase-positif, dapat memfermentasikan glukosa dan mereduksi nitrat. Ciri utama yang membedakan *Erwinia* sp. yang menyebabkan busuk lunak dari spesies *Erwinia* sp. yang lain adalah kemampuannya memproduksi enzim *pectolytic* dalam jumlah yang sangat besar sehingga dapat melunakkan jaringan parenkim pada berbagai jenis tumbuhan. Kisaran inang *E. chrysanthemi* cukup luas, terutama pisang,

Chrysanthemum spp., *Dianthus* spp., jagung, kentang dan tomat (Samson *et al.*, 2005; CABI, 2007).

Pada awal perkembangannya, *E. chrysanthemi* dibagi menjadi kelompok patovarnya sesuai dengan inangnya masing-masing. *E. chrysanthemi* telah diisolasi dari lebih 50 jenis tanaman yang berbeda. Sistem klasifikasi lainnya dengan menggunakan kriteria biokimia dan fisiologi seperti pertumbuhan pada 39 °C, produksi arginin dihidrolase, dan kemampuan untuk mengatabolisis beberapa jenis gula (Samigon *et al.*, 1978). Namun pengelompokkan berdasarkan biovar ini tidak berkorelasi dengan patovar. Bakteri *E. chrysanthemi* diklasifikasikan dengan menggunakan *restriction fragment length polymorphisms* (RFLP) dari 52 strain *E. chrysanthemi* yang telah diisolasi dari beberapa inang dengan lokasi yang berbeda dan mengelompokkannya ke dalam 10 kelompok (Boccaro *et al.*, 1991).

Pada tahun 1945 telah diusulkan penggolongan *pectolytic Erwiniae* ke dalam genus baru yaitu *Pectobacterium* berdasarkan sifat biokimianya (Waldee, 1945). Baru pada tahun 1998 diperoleh informasi terbaru dari analisis 16S rDNA yang mendorong diterimanya penamaan ini secara luas oleh komunitas ilmiah. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (*syn. E. carotovora* subsp. *carotovora*) dan *P. atrosepticum* (*syn. E. carotovora* subsp. *atroseptica*) tetap berada pada genus ini. Analisis terbaru *P. chrysanthemi* berdasarkan 16S rDNA, hibridisasi DNA, dan karakter biokimia menunjukkan bahwa patogen ini dapat dibedakan dari *pectobacteria* dan digolongkan ke dalam kelompok dan genus yang baru dengan nama yang diusulkan yaitu *Dickeya* (sesuai nama peneliti, mikrobiologis Robert S. Dickey. Belum lama ini *Dickeya* dibagi menjadi 6 spesies berdasarkan klasifikasi biovar dan patovar (Samson *et al.*, 2005), kemudian bertambah satu jenis lagi yaitu *D. solani* (Toth *et al.*, 2011).

2.3 Pestisida Nabati

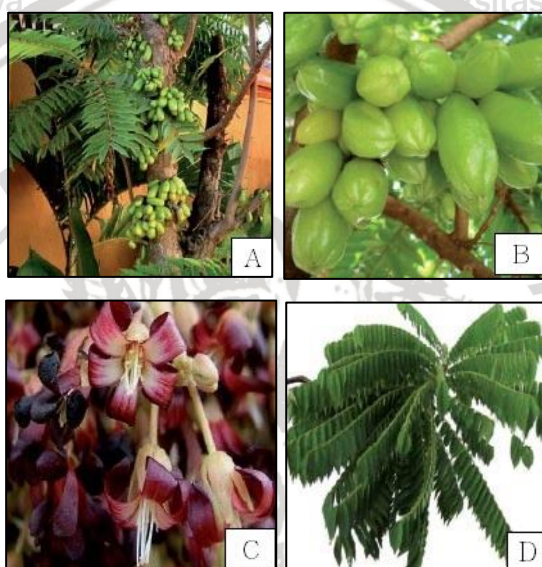
Pestisida nabati merupakan bahan aktif tunggal atau majemuk yang berasal dari tumbuhan yang dapat digunakan untuk mengendalikan organisme pengganggu tumbuhan. Pestisida nabati ini dapat berfungsi sebagai penolak, penarik, antifertilitas (pemandul), pembunuh, dan bentuk lainnya. Secara umum, pestisida nabati diartikan sebagai suatu pestisida yang bahan dasarnya berasal dari tumbuhan yang relatif mudah dibuat dengan kemampuan dan pengetahuan yang terbatas. Pestisida ini bersifat mudah terurai (*biodegradabel*) di alam,

sehingga tidak mencemari lingkungan dan relatif aman bagi manusia, dan ternak karena residunya yang mudah hilang (Syakir, 2011).

Indonesia memiliki berbagai jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati dimana zat yang terkandung dalam tanaman memiliki fungsi yang berbeda ketika berperan sebagai pestisida. Dalam fisiologi tanaman, terdapat beberapa jenis tanaman yang berpotensi sebagai bahan dasar pestisida. (Syakir, 2011).

2.4 Belimbing wuluh

Deskripsi Tanaman Belimbing Wuluh



Gambar 3. Morfologi Tanaman Belimbing wuluh: (a) Pohon belimbing wuluh; (b) buah belimbing wuluh berbentuk elips dan berwarna hijau muda; (c) bunga berwarna merah keunguan, mahkota bunga berjumlah lima; (d) daun berwarna hijau; anak daun bertangkai pendek; bentuk bulat hingga jorong; ujung runcing; pangkal membundar; tepi rata (Ali, 2014).

Klasifikasi Belimbing Wuluh. Klasifikasi ilmiah tanaman belimbing wuluh ke dalam, kingdom Plantae, subkingdom Tracheobionta, superdivisi Spermatophyta, divisi Magnoliophyta, kelas Magnoliopsida, subkelas Rosidae, ordo Geraniales, Famili Oxalidaceae, genus *Averrhoa*, spesies *Averrhoa bilimbi* Linn. (Alhassan *et al.*, 2016)

Morfologi Belimbing Wuluh. Morfologi belimbing wuluh disebut juga sebagai belimbing sayur yang merupakan tumbuhan yang hidup pada ketinggian 5-500 meter di atas permukaan laut. Ditanam sebagai pohon buah, kadang tumbuh liar. Pohon belimbing bisa tumbuh dengan ketinggian mencapai 5-10

meter. Batang utamanya pendek dan cabangnya rendah, batangnya bergelombang (tidak rata). Daunnya majemuk, berselang-seling, panjang 30-60 cm dan berkelompok di ujung cabang. Pada setiap daun terdapat 11 sampai 37 anak daun yang berselang-seling atau setengan berpasangan. Anak daun berbentuk oval (Nugrahawati et al., 2009).

Buahnya memiliki rasa asam sering digunakan sebagai bumbu masakan dan campuran ramuan jamu. Bunganya kecil, muncul langsung dari batang dengan tangkai bunga berambut. Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) berbentuk elips hingga seperti torpedo, dengan panjang 4-10 cm. warna buah ketika muda hijau, dengan sisa kelopak bunga menempel di ujungnya. Jika masak buahnya berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya berair dan sangat asam. Kulit buah berkilap dan tipis. Bijinya kecil (6 mm), berbentuk pipih, dan berwarna coklat, serta tertutup lendir (Nugrahawati et al., 2009).

Kandungan Senyawa Kimia Organik. Buah belimbing wuluh mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap berbagai penyakit. Belimbing wuluh mempunyai kandungan unsur kimia yang disebut asam oksalat dan kalium. Hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh mengandung golongan senyawa oksalat, minyak menguap, fenol, flavonoid, dan pektin (Parkesit dan Mario, 2009). Ekstrak etanol dari buah belimbing positif mengandung senyawa flavanoid dan terpenoid. Flavonoid bersifat aktif sebagai antimikroba yang bekerja dengan cara mengganggu fungsi membran sitoplasma (Samad, 2008; Parikesit, 2011).

Ekstrak tanaman yang mengandung flavonoid berpotensi dapat menghambat *intercellular adhesion genes* icaA dan icaD yang menjadi salah satu faktor pembentukan biofilm (Lee et al., 2013). Selain mengandung senyawa flavonoid, buah belimbing wuluh juga mengandung senyawa saponin triterpen (Fahrurnnida dan Pratiwi, 2012). Saponin merupakan senyawa yang memiliki tegangan permukaan yang kuat dan berperan sebagai antimikroba dengan cara mengganggu kestabilan membran sel bakteri yang menyebabkan lisis sel. Hal ini disebabkan karena saponin merupakan senyawa semipolar yang dapat larut di dalam lipid dan air, sehingga senyawa ini akan terkonsentrasi dalam membran sel mikroba (Katzung dalam Hartini, 2012).

2.5 Ekstraksi Bahan Aktif

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen atau zat aktif suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan bagian-bagian tertentu dari bahan yang mengandung komponen-komponen aktif (Harborne, 1987). Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu *aqueous phase* dan *organic phase*. Ekstraksi *aqueous phase* dilakukan dengan menggunakan pelarut air, sedangkan *organic phase* menggunakan pelarut organik (Winarno et al., 1973 dalam Rumiantin, 2011).

Jenis pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut organik (Retnowati, 2006). Ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan metode ekstraksi bertingkat dan ekstraksi tunggal. Ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut yang berbeda secara berurutan sesuai tingkat kepolarannya, sehingga diperoleh ekstrak kasar yang mengandung senyawa non polar, semi polar, dan polar. Sedangkan ekstraksi tunggal dilakukan dengan cara merendam sampel dengan satu jenis pelarut tertentu (Harborne, 1987).

Secara umum, teknik ekstraksi menggunakan pelarut organik dapat dibedakan menjadi empat, yaitu: maserasi, perkolasi, ekstraksi dengan soklet, dan refluks. Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan perendaman sampel yang telah dihancurkan menggunakan pelarut beberapa hari sambil dilakukan pengadukan, kemudian dilakukan penyaringan atau pengepresan sehingga diperoleh cairan. Maserasi modern terbuat dari *stainless steel* atau gelas yang dilengkapi dengan agitator. Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dengan flavor yang baik karena dilakukan tanpa pemanasan sehingga mengurangi kerusakan komponen aromatik (Lulail, 2009).

2.6 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Beberapa jenis ekstraksi yang dapat dilakukan dalam mengekstraksi tanaman yaitu:

Maserasi.

Metode maserasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam

pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014).

Perkolasi.

Perkolasi adalah metode ekstraksi dimana serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area (Mukhriani, 2014).

Soklet.

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel ke dalam sarung selulosa atau dapat diganti dengan kertas saring. Kemudian kertas ditempatkan diatas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux (Mukhriani, 2014).

2.7 Pelarut Ekstraksi

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam tanaman dapat ditarik oleh suatu pelarut saat proses ekstraksi. Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Jenis dan mutu pelarut yang digunakan menentukan keberhasilan dalam proses ekstraksi (Harborne, 1987). Proses ekstraksi dengan pelarut didasarkan pada sifat kepolaran zat dalam pelarut saat ekstraksi. Senyawa polar hanya akan larut pada pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol dan air. Senyawa non polar juga hanya akan larut pada pelarut non polar, seperti eter, kloroform, dan n-heksana (Gritter *et al.*, 1991).

Pelarut non polar seperti n-heksana dan aseton dapat mengekstrak likopen, triterpenoid dan sebagian kecil karotenoid. Sedangkan senyawa xantin dan senyawa polar lainnya akan terekstrak ke dalam pelarut polar seperti methanol dan etanol (Arifulloh, 2013). Sementara itu, pelarut semi polar mampu menarik senyawa termasuk likopen, betakaroten, vitamin C, padatan terlarut, dan total fenol (Ma'sum *et al.*, 2014). Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan zat yang di uji, memiliki titik didih yang rendah, murah, tidak toksik, dan tidak mudah terbakar (Harborne, 1987).

2.8 Senyawa Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan cara untuk mengidentifikasi bioaktif yang belum tampak melalui suatu tes atau pemeriksaan. Skrining bertujuan untuk

memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia. Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna menggunakan suatu pereaksi warna. Hal yang penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi (Kristianti *et al.*, 2008). Skrining fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid atau steroid, tanin, dan saponin (Harbone, 1987 dan Depkes, 1995).

Fitokimia merupakan ilmu pengetahuan yang mendeskripsikan aspek kimia pada suatu tanaman. Kajian fitokimia meliputi uraian yang mencakup beragam senyawa organik yang dibentuk dan disimpan oleh organisme, yaitu: struktur kimia, biosintesis, perubahan dan metabolisme, penyebaran secara alamiah, dan fungsi biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari berbagai macam jenis tanaman (Harborne, 1987; Sirait, 2007). Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau *bioassay* (Harborne, 1987).

2.9 Senyawa Metabolit Sekunder

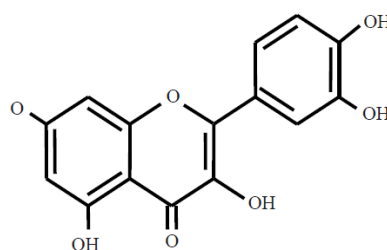
Metabolit sekunder merupakan produk metabolisme khas pada suatu tanaman yang dihasilkan oleh suatu organ tapi tidak dimanfaatkan secara langsung sebagai sumber energi bagi tanaman tersebut (Taiz dan Zeiger, 1998). Metabolit sekunder tanaman dihasilkan melalui reaksi metabolisme sekunder dari bahan organik primer yaitu karbohidrat, protein, dan lemak (Anggarwulan dan Solichatun, 2001). Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis oleh tanaman dan dibagi menjadi lima golongan, yaitu glikosida, terpenoid, fenol, flavonoid, dan alkaloid (Vickery, 1981).

Senyawa Flavonoid.

Flavonoid merupakan senyawa yang umumnya terdapat dalam tumbuhan yang terikat pada gula sebagai glikosida (Harborne, 1987). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol, sehingga larutan ekstrak yang mengandung komponen flavonoid akan berubah warna jika diberi larutan basa atau ammonia. Flavonoid dikelompokkan menjadi sembilan kelas yaitu antosianin,

proantosianin, flavonol, flavon, gliko flavon, biflavonil, kalkon dan auron, flavanone, serta isoflavan.

Flavonoid pada tanaman berikatan dengan gula sebagai glikosida dan ada pula yang berada dalam aglikon (Harborne, 1987). Aglikon flavonoid merupakan polifenol yang mempunyai sifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Flavonoid merupakan senyawa polar yang dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil sulfoksida, dimetilformamida, dan air. Namun, sebaliknya untuk aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).



Gambar 4. Struktur Kimia Senyawa Flavonoid (Redha, 2010).

Keterangan: Struktur kimia flavonoid subkelas flavonol memiliki tiga rantai karbon (rantai alifatik) dengan molekul yang mengandung gugus hidroksil (-OH) atau alkohol

Penamaan flavonoid berasal dari bahasa latin yang mengacu pada warna kuning dan sebagian besar flavonoid adalah berwarna kuning. Flavonoid sering ditemukan dalam bentuk pigmen dan kopigmen. Flavonoid adalah golongan pigmen organik yang tidak mengandung molekul nitrogen. Kombinasi dari berbagai macam pigmen ini membentuk pigmentasi pada daun, bunga, buah dan biji tanaman. Pigmen juga bermanfaat bagi manusia dan salah satu manfaat yang penting adalah sebagai antioksidan (Bhat *et al.*, 2009). Flavonoid merupakan inhibitor kuat terhadap peroksidasi lipida, sebagai penangkap oksigen atau nitrogen yang reaktif dan juga mampu menghambat aktivitas enzim lipooksigenase dan siklooksigenase (Rohman dan Sugeng, 2005).

Senyawa Tanin.

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat, dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tannin terkondensasi dan tanin

terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987).

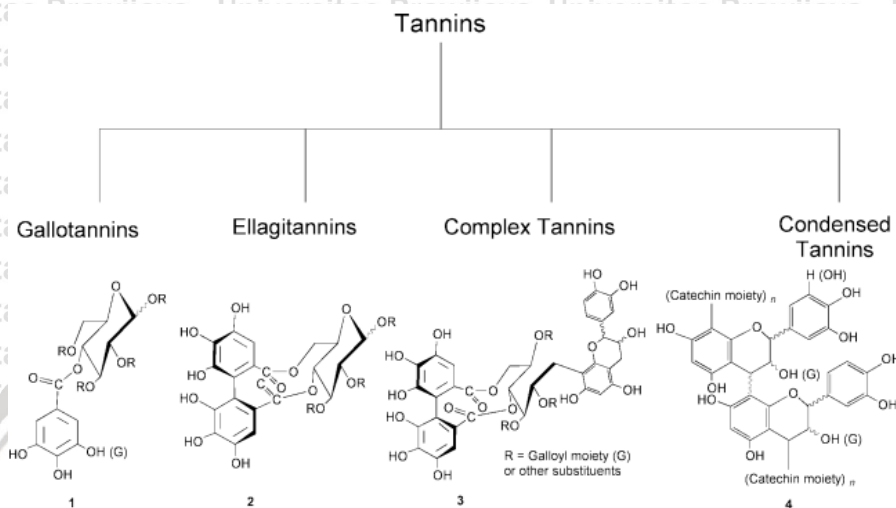


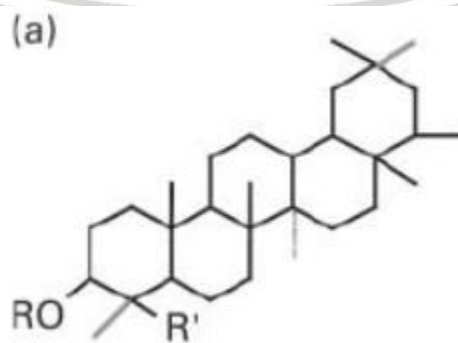
Fig. 1 Classification of the tannins.

Gambar 5. Klasifikasi Struktur Kimia Senyawa Tanin (Khanbabaee *et al.*, 2001)

Keterangan: gallotanin dan ellagitanin merupakan jenis tanin terhidrolisis yang mengandung ikatan ester dan terdapat gugus glukosa. Tanin terkondensasi adalah polimer flavonoid.

Senyawa Saponin.

Saponin Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 genus pada tumbuhan. Glikosida adalah suatu kompleks antara gula pereduksi (glikon) dan bukan gula (aglikon). Banyak saponin yang mempunyai satuan gula sampai lima dan komponen yang umum ialah asam glukuronat. Adanya saponin dalam tumbuhan ditunjukkan dengan pembentukan busa yang sewaktu mengekstraksi tumbuhan atau memekatkan ekstrak (Harborne, 1987).



Gambar 6. Struktur Kimia Senyawa Saponin (Desai, 2009)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan 1, Laboratorium Toksikologi Pestisida Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, dan Laboratorium Kima Analisis Instrumentasi, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang. Penelitian ini dilakukan selama tujuh bulan yaitu dimulai Maret 2018 hingga Oktober 2018.

3.2 Alat dan Bahan

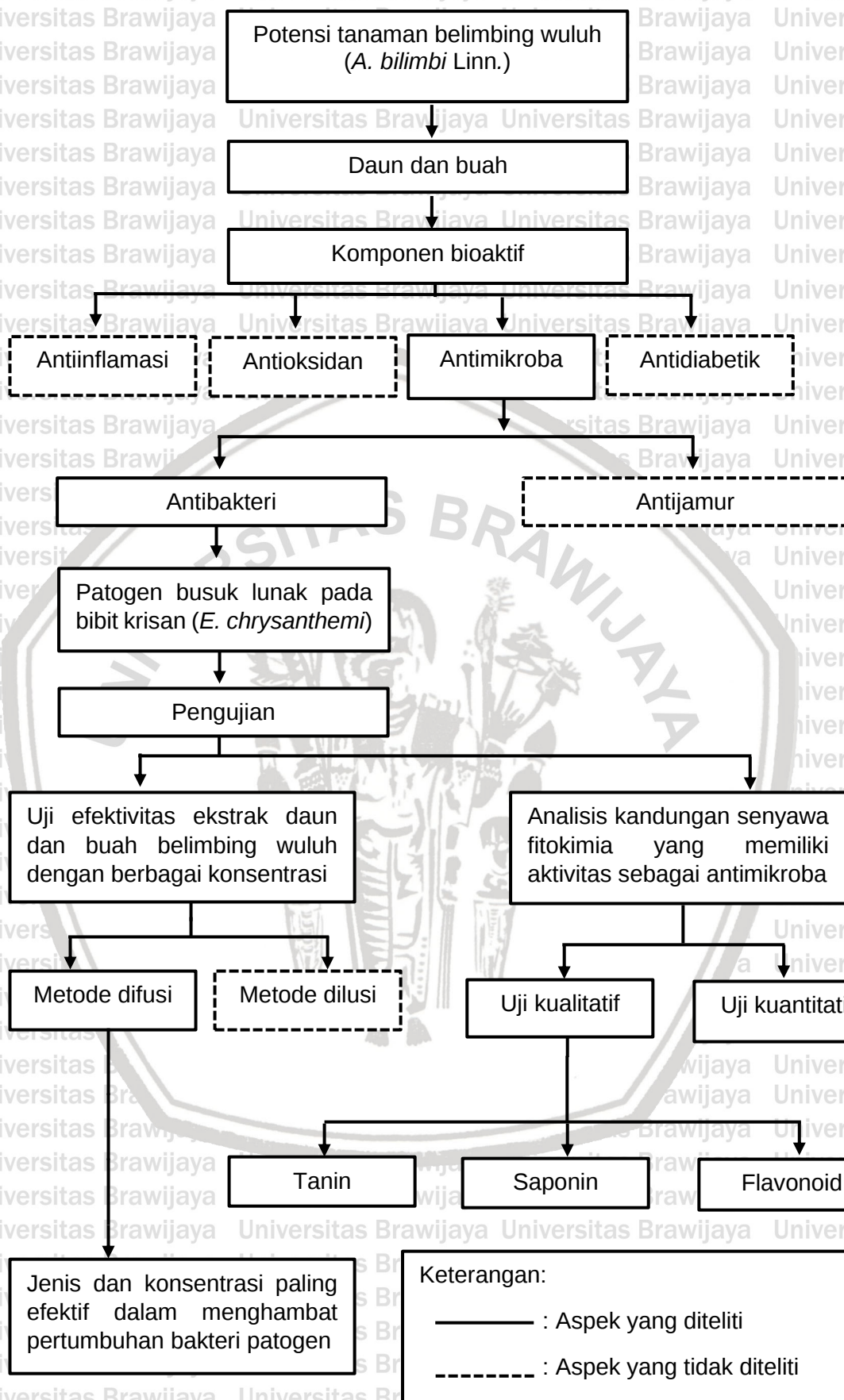
Alat Penelitian. Alat yang digunakan selama penelitian meliputi: cawan Petri kaca (d = 10 cm; t = 1,5 cm), tabung reaksi (v = 20 ml), tabung ukur (v = 200 ml), labu Erlenmeyer (v = 250 ml) jarum Ose, *vortex*, *shaker*, botol Bunsen (v = 250 ml), inkubator, autoklaf, plastik aluminium (d = 20 cm), api Bunsen, gelas ukur (v = 500 ml), mikropipet P1000, botol media (v = 250 ml) dan (v = 500 ml), oven, neraca digital, tisu steril, rak tabung reaksi kayu (p = 20 cm; l = 7 cm; t = 10 cm; d = 1,8 mm), spatula pengaduk kaca (p = 20 cm), botol vial kaca (v = 10 ml) dan (v = 20 ml), *hand sprayer* (v = 30 ml) dan (v = 350 ml), *laminar air flow* cabin (LAFC), *rotary vacuum evaporator*, labu didih (v = 250 ml), *microtube* (v = 1,5 ml), *micro tip* (v = 1,5 ml), pipet tetes plastik (v = 3 ml), *aluminium foil*, *cotton swab* steril (d = 3 mm), kertas saring (d = 110 mm), gunting, *blender*, saringan (d = 18 cm), corong kaca (d = 75 mm), perforator (d = 1,25 mm), kertas plastik perekat, pipet ukur (v = 1 ml) dan (v = 2 ml), *pipette pump* nomor 02 (k = 2 ml), pinset, plastik tahan panas (p = 22 cm; l = 40 cm) dan (p = 30 cm; l = 48 cm), kertas asturo (P = 60 cm; l = 40 cm), kotak kontainer plastik, nampan plastik, rak *microtube* (v = 2 ml), penggaris (p = 30 cm) tingkat ketelitian 1 mm, kompor gas, *hot plate*, dan kamera digital.

Bahan Penelitian. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun dan buah belimbing wuluh, akuades, Nutrien agar (NA), *Nutrient broth* (NB) akuades, spiritus, kapas, etanol 70%, etanol 96%, antibiotik kloramfenikol, serbuk magnesium (Mg) pro analisis, serbuk ferri klorit (FeCl_3) pro analisis, larutan asam klorida (HCl) pekat konsentrasi 37%, dan kultur murni bakteri penyakit busuk lunak *Erwinia chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* dengan kode isolat InaCCB1211 yang didapatkan dari stok koleksi *Indonensian Culture Collection* (InaCC) Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Kabupaten Bogor.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu studi komparasi dan analisis fitokimia. Komparasi dilakukan dengan menguji ekstrak dari dua jenis bagian dari tanaman yang sama untuk membandingkan kemampuan dan tingkat efektivitas dari kedua jenis ekstrak dalam menghambat pertumbuhan patogen (Aziz, *et al.*, 2014). Kegiatan berikutnya adalah analisis fitokimia dengan menguji kandungan senyawa bioaktif secara kuantitatif yang bertujuan untuk mengkaji perbandingan persentase senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba dari tiap jenis ekstrak (Arora *et al.*, 2017). Hal tersebut dilakukan untuk menganalisis kisaran konsentrasi dari kedua jenis ekstrak yang tergolong kategori efektivitas rendah, sedang hingga kuat sebagai antibakteri. Kegiatan analisis fitokimia dilakukan untuk mempelajari keberadaan kandungan fitokimia yang dilakukan dengan uji secara kualitatif.





Gambar 7. Alur Tahapan Penelitian

Pembuatan media NA (*Nutrient Agar*). Sejumlah 10 gram NA dilarutkan ke dalam 500 ml akuades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk, kemudian dibagi ke dalam beberapa botol steril masing-masing berisi 250 ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C dengan tekana 15 psi selama 20 menit.

Pembuatan media NB (*Nutrient Broth*). Sejumlah 10 gram NB dilarutkan ke dalam 500 ml akuades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk ml media. Botol-botol yang telah terisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C dengan tekana 15 psi selama 20 menit.

Peremajaan Kultur Patogen. Kultur murni bakteri patogen bakteri busuk lunak *E. chrysanthemi* yang akan digunakan, terlebih dahulu diremajakan pada medium padat yaitu NA dan diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya disimpan sebagai stok kultur untuk selanjutnya sebelum digunakan untuk uji perlakuan dengan dibiakan pada medium cair NB sebelum dijadikan suspensi bakteri dengan seri pengenceran 10^8 cfu/ml.

Pertumbuhan Bakteri pada Suhu 37°C. Kultur murni bakteri dari stok kultur yang telah dibiakan pada media padat NA diambil 1-2 Ose untuk selanjutnya ditumbuhkan dalam media *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Pertumbuhan dicatat pada 24 jam. Reaksi positif terjadi apabila uji bakteri tidak mampu tumbuh pada perlakuan suhu 40°C.

Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh. Kegiatan ekstraksi daun belimbing wuluh diawali pengambilan daun belimbing wuluh. Kemudian daun belimbing wuluh dikering-anginkan pada suhu ruang 25°C selama 3 hari. Daun yang telah mengering dihaluskan dengan blender hingga halus kemudian disaring dengan menggunakan saringan berukuran 20 mesh. Kemudian ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 50 gram kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml sehingga perbandingan bahan per volume (b/v) adalah 1:4. Selanjutnya larutan ekstrak di maserasi dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 2x24 jam untuk proses homogenisasi antara zat pelarut dan zat terlarut. Kemudian ekstrak yang didapatkan dipisahkan dengan pelarutnya dengan cara diuapkan berdasarkan titik didih jenis pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan hasil ekstrak daun yang murni.

Ekstraksi Buah Belimbing Wuluh. Buah belimbing wuluh yang telah dipisahkan dari bijinya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 3 hari. Bahan kemudian dihaluskan dengan blender hingga berukuran 20 mesh. Buah yang telah berukuran 20 mesh ditimbang masing-masing sebanyak 50 gram kemudian ditambahkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 200ml sehingga perbandingan b/v adalah 1:4. Selanjutnya larutan ekstrak di maserasi dengan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 2x24 jam untuk proses homogenisasi antara zat pelarut dan zat terlarut. Kemudian ekstrak yang didapatkan dipisahkan dengan pelarutnya dengan cara diuapkan berdasarkan titik didih jenis pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan hasil ekstrak daun yang murni.

Uji Kualitatif Fitokimia

Analisis fitokimia terdiri dari beberapa analisis, yaitu analisis flavonoid, saponin, dan tanin.

Flavonoid

Uji Wilstatter

Sebanyak 1 mL ekstrak pekat dicampur dengan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan serbuk magnesium dan 2-4 tetes HCl pekat dan ditambahkan serbuk magnesium sebanyak 0,1 gram. Kemudian campuran dihomogenkan. Terbentuknya warna jingga menunjukkan adanya flavonoid golongan flavonol dan flavanon (Rahayu *et al.*, 2015).

Saponin

Uji Forth

Sebanyak 1-2 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 20 ml akuades kemudian dididihkan lalu disaring dengan menggunakan kertas saring halus, diambil 10 ml filtratnya kemudian ditambahkan HCl 2N dan dikocok kuat hingga terbentuk busa. Hasil positif apabila terbentuk busa stabil 1-3 cm selama 10 menit.

Tanin

Sebanyak 0,5 gram serbuk sampel dimasukkan ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan 20 ml akuades lalu dididihkan dan disaring. Setelah itu 0,5

ml filtrat ditambahkan ferriklorida (FeCl_3) 0,1% dan diamati terjadinya perubahan warna. Terbentuknya warna hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Depkes, 1989). Penentuan golongan tanin juga dapat dilakukan dengan menambahkan larutan gelatin 1% (1:1) ke dalam ekstrak. Hasil tanin positif apabila terbentuk endapan putih (Harborne, 1987).

Pengukuran Total Flavonoid. Pengukuran kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen alumunim klorida. Sebanyak 1 ml larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 mg/l di tambahkan 1 ml AlCl_3 2% yang telah dilarutkan dengan etanol 50%, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* selama 20 menit, kemudian inkubasi suspensi larutan selama 24 menit. Ukur absorbansi pada 415 nm. Perhitungan dilakukan dengan 3 kali pengukuran dan kandungan flavonoid dinyatakan dengan kesetaraan perbandingan baku (Chang dan Wen, 2002).

Persiapan Kultur Bakteri. Kultur bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri penyebab busuk lunak *E. chrysanthemi* dari stok koleksi InaCC LIPI dengan kode isolat InaCCB1211 pada pembibitan tanaman krisan. Vial isolat kultur murni bakteri uji dibuka secara aseptik, kemudian diambil 1-2 Ose untuk dikultur kembali dan digores dengan metode *streak plate* tiga kuadran pada media *Nutrient Agar* (NA) untuk mengonfirmasi kembali koloni tunggal bakteri stok dan setelah terlihat pertumbuhan bakteri pada media NA, kultur bakteri siap digunakan dalam pengujian.

Pengujian Ekstrak Belimbing Wuluh Secara *In Vitro*. Pengujian dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby Bauer. Media yang digunakan adalah media NA sebanyak 20 ml yang telah di inkubasi selama 24 jam di dalam inkubator pada suhu 37°C sebagai persiapan sebelum aplikasi. Kemudian suspensi bakteri biakkan pada media cair dengan kerapatan 10^8 cfu/ml dan dioleskan pada media kedalam petri. Selanjutnya pemberian ekstrak daun dan buah belimbing wuluh masing-masing dengan konsentrasi yang berbeda dengan cara menyelupkan kertas cakram kosong ke dalam larutan konsentrasi ekstrak yang telah dibuat selama 15 menit dengan tiga diantaranya merupakan kontrol yaitu akuades (H_2O) steril dan etanol 96% (jenis bahan pelarut ekstrak yang digunakan) sebagai kontrol negatif, dan kloramfenikol 25 mg/g sebagai kontrol positif.

Kontrol akuades bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh akuades terhadap pada zona hambat pertumbuhan bakteri patogen tanaman yang

digunakan. Perlakuan kontrol etanol 96% bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis senyawa pelarut ekstrak yang digunakan. Perlakuan kontrol kloramfenikol bertujuan untuk mengetahui perbandingan kemampuan aktivitas antibakteri sintetik dengan antibakteri organik dari buah belimbing wuluh.

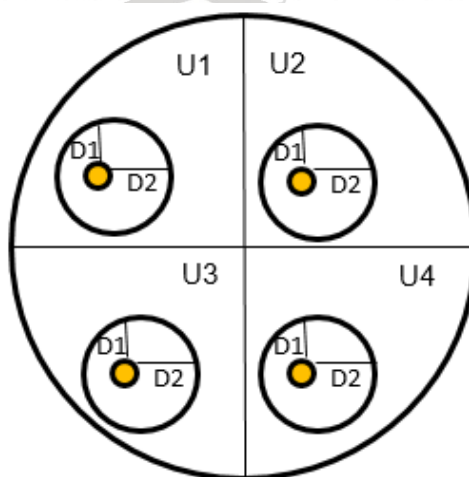
Pengujian dilakukan dengan menggunakan 21 perlakuan, diantaranya dengan delapan belas konsentrasi ekstrak yang terdiri dari satu kontrol positif, dua kontrol negatif, dan 18 konsentrasi diulang sebanyak 4 kali (Tabel 1).

Tabel 1. Perlakuan Uji Ekstrak Buah dan Daun Belimbing Wuluh Secara *In Vitro*

Perlakuan	Keterangan
P1	Kontrol negatif akuades
P2	Kontrol positif kloramfenikol 25 mg/g
P3	Kontrol negatif etanol 96%
P4	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 10%
P5	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 20%
P6	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 30%
P7	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 40%
P8	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 50%
P9	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 60%
P10	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 70%
P11	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 80%
P12	Konsentrasi ekstrak buah belimbing wuluh 90%
P13	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 10%
P14	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 20%
P15	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 30%
P16	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 40%
P17	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 50%
P18	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 60%
P19	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 70%
P20	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 80%
P21	Konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh 90%

Uji efektivitas ekstrak daun dan buah belimbing wuluh bertujuan untuk mengkaji sensitivitas senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak daun dan buah dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

Variabel Pengamatan. Variabel pengamatan yang digunakan untuk mengkaji kemampuan ekstrak belimbing wuluh menghambat pertumbuhan patogen yaitu dengan mengukur zona bening di sekitar kertas cakram dengan mengukur diameter vertikal dan horizontal (Baroroh, 2014). Pola pengamatan uji ekstrak belimbing wuluh secara *in vitro* adalah sebagai berikut:



Gambar 8. Skema Pengukuran Zona Dambat; D1 (diameter vertikal); D2 (diameter horizontal)

$$I = \frac{D1 + D2}{2}$$

Yang mana I adalah zona hambatan, D1 adalah diameter vertikal, dan D2 adalah diameter horizontal. Pengamatan dilakukan pada saat 24, 48, dan 72 jam setelah inokulasi bakteri patogen dilakukan. Kemudian zona bening diklasifikasikan berdasarkan tingkat efektivitasnya yang ditunjukkan pada klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Tabel 2).

Tabel 2. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri (Corner dan Beuchat, 1984 dalam Elgayyar *et al.*, 2000)

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
Kuat	...>11 mm
Sedang	>6 mm...<11 mm
Rendah	...<6 mm

3.4 Analisis data

Pada uji efektivitas antibakteri dan pertumbuhan patogen data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam pada taraf kesalahan

5%. Apabila respon dari perlakuan berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji

Duncan multiple range test (DMRT) pada taraf kesalahan 5%.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Efektivitas Ekstrak Daun dan Buah Belimbing Wuluh Terhadap Pertumbuhan Bakteri Patogen Busuk Lunak *Erwinia chrysanthemi*

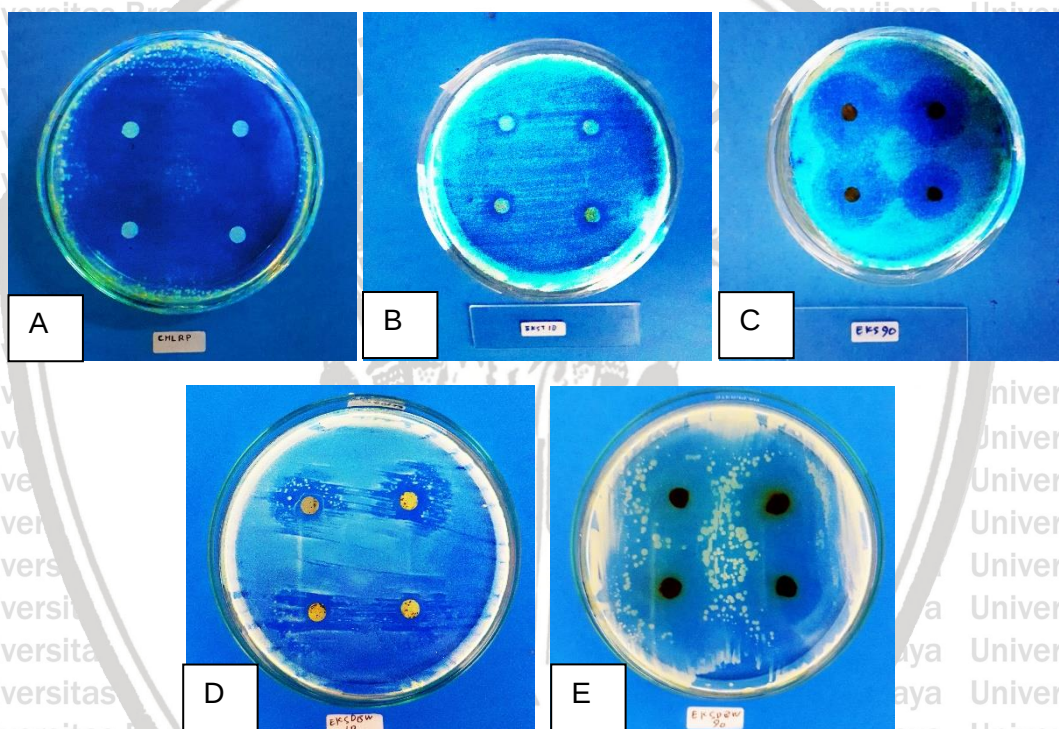
Pada pengujian ini parameter yang diamati adalah diameter zona bening yang berada di sekitar kertas cakram difusi. Zona bening merupakan bentuk aktivitas penghambatan yang dihasilkan oleh larutan ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Hasil uji daya hambat ekstrak daun dan buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri patogen busuk lunak *E. chrysanthemi* dengan pengamatan selama tiga hari setelah inokulasi yang diinkubasi dengan suhu 37 °C (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Buah dan Daun Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri Patogen *E. chrysanthemi*

Konsentrasi Perlakuan	Diameter Zona Hambat Pada Hari ke- (mm)		
	1HSI	2HSI	3HSI
	($\bar{x} \pm SB$)	($\bar{x} \pm SB$)	($\bar{x} \pm SB$)
Buah 10%	1,87 ± 0,84 a	1,68 ± 0,80 a	1,68 ± 0,92 a
Buah 20%	3,93 ± 0,38 b	3,43 ± 0,24 bc	3,00 ± 0,38 a
Buah 30%	5,18 ± 0,43 bc	4,75 ± 0,43 cd	4,50 ± 0,38 b
Buah 40%	6,75 ± 1,59 cde	5,06 ± 1,35 cd	4,68 ± 1,13 bc
Buah 50%	9,06 ± 1,05 fg	6,62 ± 1,23 efg	6,31 ± 0,60 de
Buah 60%	9,00 ± 1,30 fg	7,31 ± 1,30 fg	6,81 ± 1,33 def
Buah 70%	8,56 ± 0,97 efg	7,00 ± 0,48 fg	6,93 ± 0,43 ef
Buah 80%	9,43 ± 2,36 efg	8,25 ± 2,09 gh	8,00 ± 1,16 fgh
Buah 90%	12,68 ± 1,05 hi	9,56 ± 0,98 hi	9,43 ± 0,75 hi
Daun 10%	3,75 ± 0,25 b	3,06 ± 0,43 ab	2,87 ± 0,43 a
Daun 20%	6,56 ± 0,83 cd	5,56 ± 0,72 def	5,18 ± 0,54 bc
Daun 30%	7,12 ± 0,43 cdef	6,37 ± 0,65 defg	6,06 ± 0,74 bcd
Daun 40%	7,37 ± 1,89 def	7,00 ± 1,33 fg	6,31 ± 1,39 de
Daun 50%	14,06 ± 1,56 j	13,06 ± 1,03 k	7,87 ± 0,78 fg
Daun 60%	9,56 ± 0,84 gh	9,06 ± 0,43 h	8,43 ± 0,55 gh
Daun 70%	11,62 ± 0,38 i	10,83 ± 0,94 ij	10,33 ± 0,94 ij
Daun 80%	12,62 ± 0,43 ij	11,68 ± 0,74 jk	10,93 ± 0,54 j
Daun 90%	12,62 ± 1,88 ij	12,00 ± 2,36 jk	11,68 ± 2,17 j
Kloramfenikol 25 mg/g	19,75 ± 0,29 k	18,75 ± 0,65 l	18,31 ± 0,54 k

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf kesalahan 5%, $\bar{x}$: rerata; SB: simpangan baku

Tabel 3 menunjukkan data hasil analisis statistik, ekstrak buah dan daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% yang diperoleh terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri secara nyata. Hal tersebut terlihat dengan terbentuknya zona bening pada area sekitar kertas cakram yang telah diberi perlakuan konsentrasi ekstrak belimbing wuluh. Zona bening yang terbentuk merupakan mekanisme penghambatan larutan ekstrak tanaman terhadap bakteri patogen. Ekstrak tanaman berdifusi pada permukaan medium biakan bakteri patogen sehingga pertumbuhan bakteri terhambat akibat adanya kontak dengan zat antibiotik yang terkandung dalam ekstrak.



Gambar 9. Hasil Uji Daya Hambat Terendah dan Tertinggi Pada Ekstrak Belimbing Wuluh Dibandingkan Dengan Kontrol Antibiotik Terhadap Bakteri *E. chrysanthemi* Pada Pengamatan 3 HSI (a) kontrol antibiotik kloramfenikol 25 mg/g (b) buah konsentrasi 10% (c) buah konsentrasi 90% (d) daun konsentrasi 10% (e) daun konsentrasi 90%

Berdasarkan hasil pengamatan, kontrol negatif akuades steril dan etanol 96% tidak menunjukkan adanya zona bening pada area kertas difusi cakram. Hal ini menunjukkan bahwa akuades dan etanol 96% tidak berpengaruh positif terhadap aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri patogen uji. Sifat etanol 96% dan akuades dapat dikatakan netral dan tidak memiliki aktivitas antimikroba,

sehingga memenuhi syarat untuk digunakan sebagai pelarut ekstraksi pada penelitian uji efektivitas antibakteri.

Selanjutnya pada perlakuan kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol menunjukkan terdapatnya aktivitas penghambatan dengan terbentuknya zona bening. Hal ini menunjukkan bahwa kloramfenikol sebagai antibiotik sintetik mampu menekan pertumbuhan bakteri *E. chrysanthemi* sebagai patogen penyebab busuk lunak.

Luasan zona hambat yang terbentuk pada saat pengamatan dilakukan menunjukkan adanya penurunan luasan zona bening dari hari pertama hingga hari ketiga pengamatan. Hal ini diduga zat antibiotik kloramfenikol merupakan agen antibakteri yang bersifat bakteriostatik. Sifat bakteriostatik dari antimikroba umumnya bersifat tidak mutlak, karena bakteriostatik dapat bersifat bakterisidal apabila kadar atau konsentrasinya ditingkatkan.

Uji Efektivitas Ekstrak Buah Belimbing Wuluh. Berdasarkan data hasil pengujian efektivitas buah belimbing wuluh yang diperoleh, diketahui bahwa semakin ditingkatkannya konsentrasi ekstrak, maka akan semakin tinggi pula kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penggunaan sembilan konsentrasi dengan interval setiap perlakuan sebesar 10% bertujuan untuk mengkaji apakah hasil yang diperoleh dengan peningkatan persentase konsentrasi ekstrak rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara nyata. Perlakuan sembilan konsentrasi juga bertujuan untuk mengategorikan kisaran rerata kemampuan daya penghambatan ekstrak belimbing wuluh terhadap bakteri setiap konsentrasi berdasarkan acuan kriteria respon daya hambat menurut Corner dan Beuchat (1984). Hasil kemampuan ekstrak setiap konsentrasi tersebut kemudian dapat dianalisis untuk dijadikan acuan penggunaan dalam skala luas.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak buah belimbing wuluh yang memiliki pengaruh secara nyata. Konsentrasi paling efektif ditunjukkan pada konsentrasi 90% dibandingkan dengan konsentrasi 10% pada 1 HSI sampai 3 HSI. Daya penghambatan kategori rendah berdasarkan tabel klasifikasi respon penghambatan bakteri (Corner dan Beuchat, 1984) adalah konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40%. Hal ini dibuktikan bahwa hasil diameter zona bening keempat perlakuan konsentrasi pada 3 HSI berturut-turut adalah sebesar 1,68 mm, 3,00 mm, 4,50 mm, dan 4,68 mm. Berdasarkan tabel klasifikasi,

disebutkan bahwa rerata zona hambat kurang dari 6 mm maka dikategorikan sebagai antimikroba dengan respon hambatan rendah terhadap bakteri *E. chrysanthemi*. Sedangkan ekstrak buah belimbing wuluh dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% masuk ke dalam kategori daya penghambatan kategori sedang dengan hasil perlakuan pada 3 HSI didapatkan nilai zona bening adalah 6,31 mm, 6,81 mm, 6,93 mm, 8,00 mm, dan 9,43 mm. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, konsentrasi 90% memiliki hasil yang paling efektif. Hal ini diduga karena akumulasi jumlah zat antimikroba pada konsentrasi paling tinggi dan mendekati kepekatan ekstrak murni. Luasan zona bening konsentrasi 90% yang terbentuk pada 1 HSI mencapai 12,68 mm. Namun demikian, meskipun konsentrasi 90% memiliki daya hambat yang tertinggi dibandingkan kedelapan konsentrasi lainnya, secara umum ekstrak buah belimbing wuluh memiliki kecenderungan belum mampu untuk menghambat pertumbuhan *E. chrysanthemi* dengan tinggi, hal ini dapat dimungkinkan oleh dua hal, yaitu karena bakteri patogen uji tidak terlalu sensitif dengan kandungan zat bioaktif ekstrak buah belimbing wuluh dan yang kedua dikarenakan jumlah zat bioaktif antimikroba yang terkandung pada ekstrak tersebut rendah.

Tingkat kepekaan pada uji efektivitas antibakteri buah belimbing wuluh yang secara rerata belum mencapai daya hambat tinggi dapat dipengaruhi karena bakteri patogen *E. chrysanthemi* yang merupakan bakteri Gram negatif, memiliki struktur dinding sel yang tebal dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Hal tersebut dapat mempengaruhi tingkat kemampuan penetrasi senyawa bioaktif antimikroba. Senyawa ekstrak menjadi lebih sulit mengintervensi dan menembus dinding sel bakteri. Menurut Ambarwati (2007) membran sel bakteri erat kaitannya dengan kemampuan mekanisme kerja senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan penelitian (Mokhtar *et al.*, 2016) dilaporkan efektivitas penghambatan antimikroba ekstrak buah belimbing wuluh terhadap bakteri *E. coli* dengan variabel uji tingkat kematangan dari ekstrak buah yang digunakan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh mampu menghasilkan zona hambat sebesar 10,3 mm dari ekstrak buah tingkat kematangan muda dan 10 mm untuk buah tingkat kematangan dewasa. Hasil penelitian tersebut menunjukkan data keragaman kemampuan ekstrak buah belimbing wuluh sebagai agen antibakteri dan menyampaikan informasi kriteria

pemilihan bahan ekstrak yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan famili Enterobacteriaceae.

Pengukuran nilai zona bening dari perolehan data selama tiga hari setelah inokulasi menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan ekstrak buah belimbing wuluh memiliki kecenderungan bersifat bakteriostatik atau dalam kata lain memiliki mekanisme yang menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini ditunjukkan oleh zona hambat yang terbentuk pada 1 HSI hingga 3 HSI selalu mengalami penurunan. Menurut Goering *et al.* (2013) bakteriostatik adalah sifat antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan bersifat sementara (*reversible*). Konsentrasi hambat bakteriostatik lebih rendah daripada konsentrasi bakterisida. Senyawa bakteriostatik umumnya menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini dapat ditinjau dengan penambahan antimikroba pada kultur mikroba yang berada pada fase logaritmik.

Uji Efektivitas Ekstrak Daun Belimbing Wuluh. Perlakuan konsentrasi ekstrak daun 10% dan 20% terhadap penghambatan bakteri *E. chrysanthemi* menunjukkan bahwa hasil berbeda nyata. Nilai zona hambat tiga hari setelah inokulasi pada konsentrasi tersebut adalah 2,87 mm dan 5,18 mm. Hasil keduanya menunjukkan masuk ke dalam kategori respon hambatan rendah (<6mm) berdasarkan tabel (Corner dan Beuchat, 1984). Kemudian, hasil ditunjukkan pada perlakuan 30% tidak berbeda nyata bila dibandingkan konsentrasi 20%, namun berbeda nyata dengan 40%. Konsentrasi 40-70% menunjukkan adanya perbedaan secara nyata pada tiap interval perlakuan konsentrasi 10%. Hasil pada 3 HSI berturut-turut menunjukkan 6,31 mm, 7,83 mm, 8,43 mm, dan 10,33 mm. Keempat konsentrasi tersebut masuk ke dalam kategori sedang berdasarkan tabel klasifikasi respon hambatan (Corner dan Beuchat, 1984).

Berdasarkan penelitian Aziz *et al.* (2014) yang mengkaji antimikroba ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Erwinia* sp. menunjukkan nilai zona penghambatan yang dihasilkan adalah 9 mm dengan konsentrasi ekstrak sebanyak 2 mg, 10 mm pada konsentrasi 4 mg, dan 10,5 mm pada konsentrasi 6 mg. Berdasarkan literatur pembandingan, hasil yang didapatkan pada penelitian ini memiliki kesamaan. Hasil penelitian menunjukkan kecenderungan rerata daya hambat pada kategori zona hambat sedang (>6-11 mm), berdasarkan tabel klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri (Corner dan Beuchat, 1984) dengan rerata zona hambat dibawah 11 mm. Hal tersebut dapat dijadikan

penilaian bahwa dengan jenis bahan ekstrak, pelarut, dan genus bakteri uji yang sama, kemampuan ekstrak daun belimbing wuluh sebagai agen antibakteri termasuk ke dalam kisaran kemampuan antimikroba tingkat sedang.

Kemampuan daya hambat paling efektif dengan nilai rerata daya hambat tinggi adalah pada konsentrasi 50%, 80%, dan 90% pada 1 HSI dengan zona hambat yang diperoleh 14,06 mm, dan 12,62 mm. Sedangkan pada perlakuan pada 2 HSI dan 3 HSI adalah konsentrasi 80% dan 90%. Kedua konsentrasi tersebut dinilai paling efektif namun tidak memiliki perbedaan secara nyata. Diameter zona hambat pada setiap perlakuan cenderung akan meningkat, berbanding lurus seiring peningkatan jumlah konsentrasi ekstrak. Hal berbeda terjadi pada konsentrasi perlakuan 50%, dimana zona hambat yg diperoleh, memiliki kemampuan daya hambat tinggi berdasarkan data 1 HSI dengan zona hambat sebesar 14,06 mm dan 13,06 mm pada 2 HSI, namun pada 3 HSI rerata zona hambat menurun signifikan yaitu dengan rerata 7,87 mm.

Perbandingan secara rerata selama tiga hari, konsentrasi 50% menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan konsentrasi 60% dan 70%, namun bila dibandingkan pada hari pengamatan terakhir yaitu 3 HSI nilai konsentrasi 60%, dan 70% lebih tinggi secara signifikan, karena zona hambat yang terbentuk adalah 8,43 mm dan 10,33 mm. Hal serupa juga terjadi pada hasil uji zona hambat penelitian lain, di mana diameter zona hambat tidak selalu naik sebanding dengan naiknya konsentrasi antibakteri (Ambarwati, 2007). Hal ini juga dimungkinkan terjadi karena adanya perbedaan kecepatan senyawa difusi senyawa antibakteri pada media agar.

Peningkatan nilai zona hambat secara drastis yang terjadi pada perlakuan konsentrasi 50% pada 1 HSI dan 2 HSI dimungkinkan karena faktor pertumbuhan bakteri yang sedang berada pada fase eksponensial. Pada fase ini sel-sel mulai mengadakan perubahan bentuk dan meningkat jumlahnya sehingga kurva meningkat dengan tajam. Kegiatan metabolismenya tinggi dan lebih peka terhadap antibiotik. Fase ini dipengaruhi beberapa faktor yaitu bentuk dan sifat mikroba terhadap lingkungannya, kandungan nutrisi dalam medium, temperatur, kadar oksigen, cahaya, dan lain-lain (Jawetz *et al.*, 1996).

Perbandingan Tingkat Efektivitas Ekstrak Buah Dengan Daun Belimbing Wuluh. Perbandingan hasil dari uji daya hambat dari kedua jenis ekstrak diketahui bahwa dengan konsentrasi perlakuan yang sama, penekanan

pertumbuhan bakteri *E. chrysanthemi* lebih efektif terhadap ekstrak daun dibandingkan dengan ekstrak buah. Berdasarkan analisis statistik, kedua jenis ekstrak menunjukkan adanya perbedaan hasil secara nyata. Hal ini berkaitan dengan kemampuan senyawa bioaktif antimikroba yang terkandung di dalam masing-masing ekstrak. Kemampuan ekstrak daun terlihat memiliki kemampuan daya hambat yang lebih tinggi terhadap aktivitas fisiologis bakteri *E. chrysanthemi*. Hal ini dibuktikan bahwa nilai zona hambat ekstrak daun pada tiga konsentrasi, yaitu 50%, 80%, dan 90% masuk ke dalam daya penghambatan tinggi (>11 mm), sedangkan konsentrasi ekstrak buah konsentrasi 90% hanya mampu menghambat dengan kategori daya penghambatan sedang dengan rerata 10,55 mm.

Berdasarkan hasil pengamatan, tingkat toksisitas zat antimikroba kedua jenis ekstrak efektif dalam menekan aktivitas fisiologis bakteri, namun belum mampu membunuh atau menghentikan aktivitas fisiologis patogen. Hal ini terlihat dari data pengamatan 1-3 HSI pada setiap harinya menunjukkan adanya penurunan luasan zona bening pada medium biakan bakteri. Peningkatan konsentrasi perlakuan dari data yang didapatkan, menunjukkan bahwa setiap peningkatan interval konsentrasi perlakuan ekstrak sebesar 10% hanya mampu meningkatkan kemampuan penghambatannya sebesar satu tingkat, yaitu dari kategori penghambatan rendah ke sedang ataupun sedang ke kategori tinggi pada konsentrasi tertentu berdasarkan tabel respon hambatan antibakteri (Corner dan Beuchat, 1984). Peningkatan konsentrasi pada kisaran konsentrasi ekstrak rendah yaitu di bawah 50% dan konsentrasi menengah (50-60%) nyatanya juga belum memperlihatkan daya penghambatan yang tinggi. Sehingga respon hambatan efektivitas tinggi baru dapat dicapai pada rentan konsentrasi tinggi yaitu sekitar 70%, 80%, dan 90%.

Penelitian antimikroba yang dilaporkan Viswanath *et al.* (2018) terkait pemanfaatan beberapa ekstrak tanaman yaitu daun kecubung, daun tin, daun lada air, daun poplar putih, daun mimba, daun kenari Persia, daun bulu kuda, dan daun adas terhadap patogen busuk lunak *E. carotovora* memiliki rerata daya penghambatan masing-masing sebesar 11,7 mm, 9,5 mm, 9,2 mm, 9,0 mm, 8,3 mm, 6,3 mm, 6,4 mm, dan 4,5 mm. Hal tersebut jika dibandingkan dengan penelitian ini yang menggunakan ekstrak belimbing wuluh, ekstrak daun kecubung memiliki kemampuan yang paling tinggi pada penelitian tersebut dan setara dengan kemampuan ekstrak daun belimbing wuluh konsentrasi 80% yang memiliki

daya hambat 11,74 mm pada 1 HSI dan lebih rendah apabila dibandingkan dengan ekstrak daun belimbing wuluh 90% yang memiliki zona hambat sebesar 12,10 mm pada 1 HSI.

Berdasarkan kemampuan sepuluh jenis ekstrak daun pada literatur pembandingan tersebut dengan hasil penelitian yang telah dilakukan, secara umum memiliki kemiripan, yaitu kecenderungan kemampuan ekstrak tanaman uji sebagai antibakteri memiliki kemampuan daya penghambatan bakteri patogen busuk lunak genus *Erwinia* memiliki daya penghambatan kategori sedang ($>6-11$ mm). Hal ini terlihat dari zona hambat yang terbentuk pada masing-masing jenis ekstrak yang menghasilkan zona hambat pada kisaran 6-9 mm. Sehingga berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan penelitian lain tersebut dapat memberikan informasi terkait gambaran umum seberapa jauh tingkat sensitivitas bakteri patogen dengan genus *Erwinia* terhadap kemampuan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada berbagai jenis tanaman yang potensial sebagai agen antibakteri dalam mengintervensi aktivitas fisiologis bakteri patogen yang ditunjukkan dengan jumlah luasan zona hambat yang terbentuk sebagai parameter tingkat keefektifan ekstrak tanaman.

4.2 Hasil Analisis Kualitatif Senyawa Fitokimia Ekstrak Belimbing Wuluh

Hasil analisis fitokimia kualitatif ekstrak belimbing wuluh menunjukkan teridentifikasinya beberapa komponen senyawa metabolit sekunder tanaman dengan indikator uji perubahan warna dengan penambahan reagen terhadap ekstrak tanaman guna mengidentifikasi keberadaan senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang diduga memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri patogen uji (Tabel 4).

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Hasil Reaksi Perubahan Warna	Keterangan
Flavonoid	Uji Wilstater (Mg + HCl pekat 37%)	Daun: magenta	+
		Buah: merah bata	+
		Daun: hijau kehitaman	+
Tanin	Reagen FeCl_3 1%	Buah: Endapan hijau	+
Saponin	Uji Forth (Akuades + HCl 2N)	Membentuk buih stabil	+

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Daun dan Buah Belimbing Wuluh

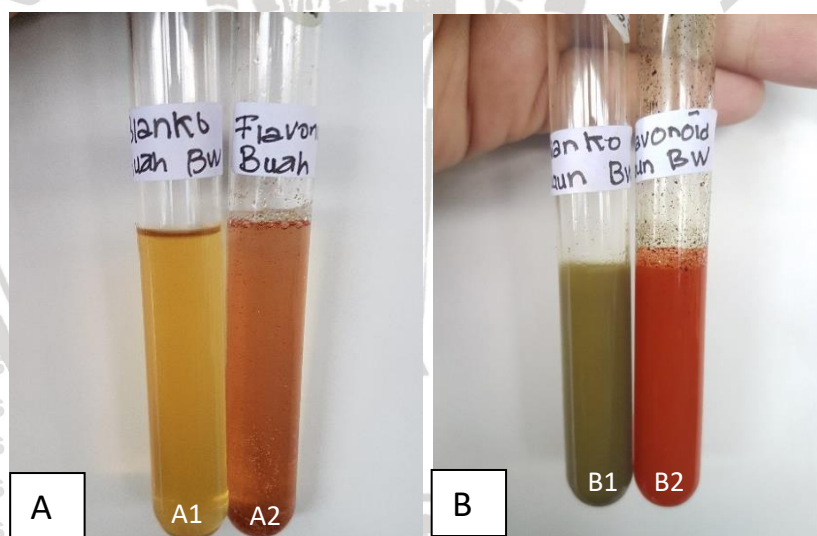
Keterangan: (+) teridentifikasi mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa ekstrak belimbing wuluh dengan pelarut ekstrak etanol 96% yang digunakan dalam penelitian ini

teridentifikasi mengandung beberapa jenis senyawa metabolit sekunder tanaman yang diduga memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Menurut Ahmad *et al.* (1998) pelarut etanol merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan air dan heksana dalam proses ekstraksi komponen antimikroba.

Flavonoid

Berdasarkan hasil pengujian kualitatif fitokimia yang telah dilakukan dapat dilihat bahwa daun dan buah belimbing wuluh mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid. Hasil pengujian memperlihatkan adanya perubahan warna larutan ekstrak buah dan daun berubah dari warna kuning dan hijau tua menjadi warna jingga dan merah bata. Pengujian kualitatif flavonoid ekstrak dengan penambahan reagen dengan jenis logam magnesium dan asam klorida (HCl) akan memberikan warna merah. Kemungkinan golongan flavonoidnya adalah flavanon, flavanonol dan flavanol. (Noer *et al.*, 2018). Menurut Naidu (2000) flavonoid merupakan golongan yang penting karena memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran (Gambar 10).

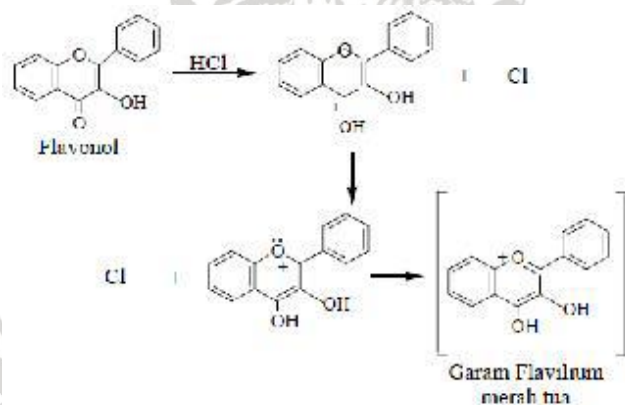


Gambar 10. Hasil Analisis Kualitatif Flavonoid Pada Ekstrak Belimbing Wuluh (a) buah; a1 ekstrak buah tanpa penambahan reagen berwarna kuning; a2 hasil penambahan reagen berubah warna menjadi magenta atau jingga (b) daun; b1 ekstrak daun tanpa penambahan reagen berwarna hijau; b2 hasil reaksi penambahan reagen berubah warna menjadi merah bata.

Flavonoid merupakan senyawa yang mengandung dua cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil

semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar sehingga dapat terekstrak dalam pelarut-pelarut polar (Robinson, 1995). Menurut Maradona (2013) bakteri Gram negatif umumnya sensitif terhadap senyawa antimikroba yang bersifat polar karena dinding sel bakteri Gram negatif bersifat polar sehingga lebih mudah dilalui oleh senyawa antibakteri yang bersifat polar. Sedangkan senyawa flavonoid merupakan senyawa aktif yang berfungsi untuk mengganggu sintesis dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran plasma yang mengakibatkan lisisnya sel bakteri (Chusnie, 2005).

Sedangkan pada analisis flavonoid ekstrak buah belimbing wuluh menggunakan uji Wilstater menunjukkan warna merah yang berarti positif mengandung flavonoid. Magnesium dan asam klorida pada uji Wilstater bereaksi membentuk gelembung yang merupakan gas H_2 sedangkan logam Mg dan HCl pekat pada uji ini berfungsi mereduksi benzonipron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna dari cokelat menjadi merah atau jingga (Prashant *et.al.*, 2011). Jika dalam suatu ekstrak tanaman terdapat senyawa flavonoid akan terbentuk garam flavilium saat penambahan Mg dan HCl yang merah atau magenta dengan reaksi gambar seperti berikut (Gambar 11).

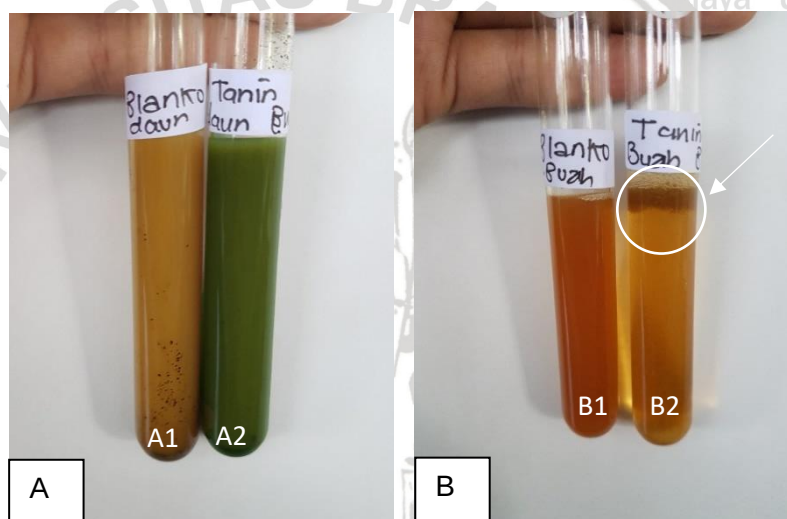


Gambar 11. Mekanisme Reaksi Pembentukan Garam Flavilium (Achmad, 1986).

Tanin

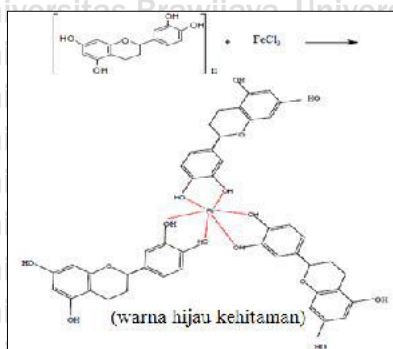
Pada percobaan identifikasi tanin menggunakan pereaksi besi(III)klorida. Hasil yang diperoleh pada ekstrak belimbing wuluh adalah positif mengandung tanin dengan memberikan warna hijau kehitaman pada ekstrak daun belimbing wuluh dan terbentuknya endapan berwarna hijau kecoklatan pada ekstrak buah belimbing wuluh. Endapan berwarna hijau kecoklatan pada ekstrak buah menunjukkan bahwa tanin yang terkandung adalah jenis tanin terkondensasi. Tanin yang ditemukan pada buah-buahan, biji-bijian, dan tanaman umumnya

merupakan jenis tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis dapat larut dalam pelarut organik seperti etanol dan methanol (Robinson, 1995). Tanin dikenal sebagai senyawa antinutrisi karena kemampuannya membentuk ikatan kompleks dengan protein. Kemampuan tanin untuk mengendapkan protein ini disebabkan tanin memiliki sejumlah gugus fungsional yang dapat membentuk kompleks kuat dengan molekul protein-molekul protein. Sifat tanin yang dapat mengikat protein tersebutlah yang diduga dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antimikroba untuk mengintervensi atau menghambat aktivitas fisiologis terhadap bakteri patogen tanaman. Senyawa tanin sebagai antibakteri memiliki kemampuan menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) karena tanin merupakan senyawa fenol (Cowan, 1989) (Gambar 12).



Gambar 12. Hasil Analisis Tanin Belimbing Wuluh Dengan Reagen FeCl_3 (a) daun; a1 blanko daun berwarna coklat muda; hasil penambahan reagen hijau tua (b) buah; b1 blanko buah berwarna jingga; hasil penambahan reagen terbentuk endapan berbentuk cincin berwarna hijau.

Penambahan ekstrak dengan FeCl_3 1% dalam air menghasilkan indikator berupa warna hijau, merah, ungu atau hitam yang kuat. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan FeCl_3 1% karena tanin akan beraksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks. Reaksi tanin dengan FeCl_3 (Gambar 13).



Gambar 13. Reaksi Antara Tanin dan FeCl_3 ; terjadi pembentukan senyawa kompleks antara loga Fe dan tanin. Senyawa kompleks terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007).

Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Senyawa tanin (fenol) yang terkandung dalam ekstrak daun belimbing wuluh ini mampu membunuh mikroorganisme yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel maka semua aktivitas metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang merupakan suatu protein (dan Chan, 2008). tanin merupakan polifenol yang reaktif dengan dinding sel bakteri dan enzim ekstraseluler yang diproduksi oleh bakteri. Interaksi ini akan menghambat transport nutrisi ke dalam sel sehingga menghambat pertumbuhan organisme (McSweeney *et al.*, 2001).

Saponin

Identifikasi adanya saponin menggunakan uji Forth menunjukkan pada ekstrak buah dan daun belimbing wuluh positif mengandung saponin. Hal dibuktikan dengan terbentuknya busa stabil yang dapat bertahan tidak kurang dari 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan HCl 2N. 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 2N berfungsi sebagai pereaksi (Suharto *et al.*, 2012).

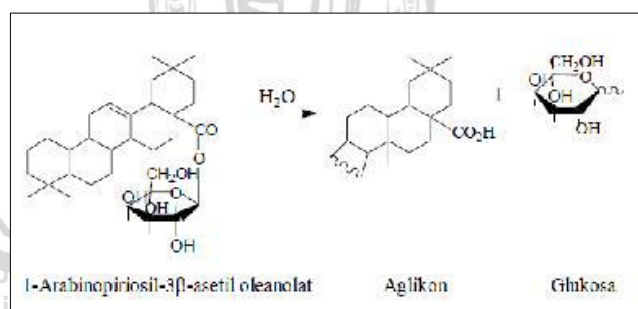
Buah belimbing wuluh diketahui mengandung senyawa saponin triterpen (Pratiwi, 2012). Hal ini dikarenakan saponin merupakan senyawa semipolar yang dapat larut dalam lipid dan air, sehingga senyawa ini akan terkonsentrasi dalam membran sel mikroba. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan peningkatan

permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Robinson, 1995).



Gambar 14. Hasil Uji Saponin Ekstrak Belimbing Wuluh Metode Forth (a) daun membentuk buih stabil setinggi 1 cm (b) buah membentuk buih stabil setinggi 1 cm setelah didiamkan selama 10 menit setelah reagen ditambahkan.

Timbulnya busa stabil setinggi 1 cm pada uji Forth menunjukkan adanya kandungan glikosida. Menurut Houghton dan Raman (1998) komponen bioaktif yang larut dalam etanol adalah glikosida. Glikosida memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Gambar 15).



Gambar 15. Reaksi Hidrolisis Saponin Dalam Air (Raman 1998)

Glikosida merupakan kelas dari senyawa antimikroba yang secara spesifik memiliki mode aksi sebagai bakterisidal dan menghambat sintesis asam nukleat, namun glikosida yang terkandung pada senyawa saponin pada ekstrak daun dan buah yang memiliki mode aksi bakterisidal tersebut masih belum mampu bakteri *E. chrysanthemi* hal ini dimungkinkan karena belum diketahuinya

persentase secara pasti sehingga kandungan glikosida yang teridentifikasi pada saat uji saponin belum mampu menggambarkan secara umum bahwa saponin pada ekstrak daun dan buah belimbing wuluh memiliki mekanisme sebagai agen bakterisidal. Menurut Lenni (2006) glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida. Oleh karena itu, glikosida mudah larut pada pelarut yang mempunyai polaritas tinggi.

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki mekanisme antibakteri dengan cara mendestruksi membran sel bakteri. Membran sel bakteri berfungsi sebagai jalan keluar masuknya zat-zat penting yang dibutuhkan bakteri. Apabila membran sel mengalami kerusakan akan mengakibatkan sel bakteri tersebut mati (Ajizah, 2014). Saponin termasuk dalam zat antibakteri yang menghambat fungsi membran sel mikroba. Saponin membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen sehingga menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel, menyebabkan pelepasan isi sel dan menimbulkan kematian sel (Permatasari, 2013).

4.3 Hasil Analisis Kuantitatif Ekstrak Belimbing Wuluh

Berdasarkan hasil analisis kandungan secara kuantitatif, didapatkan hasil bahwa dari tiga replikasi pengukuran nilai absorbansi ekstrak daun dan buah belimbing wuluh didapatkan hasil untuk ekstrak buah memiliki total kadar flavonoid tertinggi yaitu 444 $\mu\text{g/g}$ dan terendah 387 $\mu\text{g/g}$, sedangkan ekstrak daun didapatkan nilai jauh lebih tinggi yaitu sebesar 3.494 $\mu\text{g/g}$ untuk yang tertinggi dan yang terendah 3.129 $\mu\text{g/g}$ (Tabel 4).

Tabel 5. Hasil Pengukuran Absorbansi Flavonoid Total Belimbing Wuluh

Ekstrak	Absorbansi	Total Flavonoid ($\mu\text{g/g}$)	Total Flavonoid (%)
Buah	0,17	444	0,04
	0,22	387	0,03
	0,32	426	0,04
Daun	0,31	3.494	0,34
	0,61	3.441	0,34
	0,83	3.129	0,31

Berdasarkan hasil pengukuran total flavonoid, diketahui bahwa dengan jenis pelarut yang sama yaitu etanol 96% ekstrak daun memiliki jumlah yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak buah. Jumlah total flavonoid yang didapat ini dipengaruhi oleh tingkat kepolaran pelarut dalam mengekstraksi senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak daun lebih tinggi dibandingkan pada buah.

Sehingga dapat diproyeksikan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh memiliki kemampuan yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen karena dipengaruhi jumlah substansi senyawa bioaktif antimikroba yang lebih tinggi. Menurut Parekh *et al.* (2005), aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh polaritas senyawa yang diekstraksi oleh masing-masing pelarut dengan kemampuan zat tersebut untuk menyebar pada media berbeda yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Berdasarkan penelitian Muhamad *et al.* (2015) dilaporkan bahwa ekstrak buah belimbing wuluh dengan pelarut etanol memiliki kadar *Total Flavonoid Content* (TFC) dengan tiga kali replikasi adalah sebesar 336,7 µg/g. Hasil tersebut jika dibandingkan dengan nilai total flavonoid yang didapatkan pada penelitian ini memiliki nilai yang lebih tinggi, karena dengan jenis ekstrak dan pelarut yang sama, nilai rerata jumlah total flavonoid tiga kali replikasi yang didapatkan pada penelitian ini adalah sebesar 419 µg/g.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi jumlah total flavonoid terekstrak adalah waktu dan suhu pada saat ekstraksi. Penggunaan suhu yang terlalu rendah atau yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi jumlah senyawa yang terekstrak. Pada saat penelitian dilakukan, lama waktu ekstraksi yang dibutuhkan bervariasi, hal ini dikarenakan lama waktu ekstraksi bergantung pada kemampuan alat *rotary vacuum evaporator* dalam memisahkan antara pelarut dengan filtrat. Rata-rata waktu yang dibutuhkan pada saat ekstraksi adalah berkisar 60-120 menit dengan suhu 70°C. Penggunaan suhu 70°C digunakan pada saat proses ekstraksi dikarenakan pelarut etanol memiliki titik didih pada suhu 78,3°C.

Penggunaan alat *rotary vacuum evaporator* sebagai separator dalam proses ekstraksi memungkinkan adanya penggunaan suhu evaporator 5-10°C lebih rendah dari titik didih pelarutnya. Hal ini dikarenakan mekanisme kerja alat menggunakan sistem rotasi, sehingga mampu mempercepat laju proses penguapan zat pelarut. Berdasarkan penelitian Muhamad *et al.* (2015) ekstraksi belimbing wuluh dengan waktu dari 15 menit menjadi 60 menit menunjukkan adanya efek tertinggi pada total flavonoid, dimana terjadi peningkatan TFC dari 200 µg/g menjadi 300 µg/g. Peningkatan suhu ekstraksi dari 30°C ke 70°C menunjukkan adanya peningkatan total flavonoid, total fenol, dan aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 50%, 45%, dan 29% (Muhamad *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil pengujian kuantitatif senyawa flavonoid tersebut, diketahui bahwa jumlah total flavonoid memiliki korelasi positif dengan keefektivitasan kedua jenis bahan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. chrysanthemi*. Hasil total flavonoid yang jauh lebih tinggi pada kandungan ekstrak daun memperlihatkan adanya kemampuan ekstrak daun tersebut yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen, yang terlihat dari semakin luasnya zona hambat yang terbentuk.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji efektivitas ekstrak belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap patogen penyebab penyakit busuk lunak pada bibit krisan disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun dan buah belimbing wuluh efektif menekan pertumbuhan bakteri patogen *E. chrysanthemi*. Konsentrasi paling yang efektif menekan pertumbuhan patogen sampai pada 3 HSI yaitu 90% pada buah dengan diameter zona hambat 9,43 mm. Konsentrasi 80% dan 90% pada daun dengan diameter zona hambat 10,93 mm dan 11,68 mm. Hasil uji menunjukkan ekstrak daun lebih efektif dibandingkan ekstrak buah.
2. Ekstrak belimbing wuluh secara kualitatif positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, dan tanin, serta secara kuantitatif ekstrak daun memiliki total kandungan senyawa bioaktif uji yaitu flavonoid yang lebih tinggi yaitu 3.494 µg/g dan ekstrak buah sebesar 444 µg/g.

5.2 Saran

Perlu dilakukannya penelitian serupa untuk mengkaji efektivitas ekstrak buah dan daun belimbing wuluh dalam menghambat pertumbuhan *E. chrysanthemi* pada kondisi lapang untuk dapat dijadikan rekomendasi alternatif yang ekonomis dan efektif kepada petani. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji efektivitas antibakteri dengan kombinasi berbagai jenis bagian tanaman belimbing wuluh untuk mendapatkan efek sinergisme dan meningkatkan efektivitas antibakteri. Serta dilakukan pengujian ekstrak dari bunga dan kulit batang belimbing wuluh untuk mengoptimasi pemanfaatan tanaman belimbing wuluh sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen busuk lunak *E. chrysanthemi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1986. Kimia Organik Bahan Alam. Karunika. Jakarta
- Ajizah, A., Thihana., dan Mirhanuddin. 2014. Potensi Ekstrak Kayu Ulin (*Eusideroxylon zwageri* T et B) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara in Vitro. Jurnal Ilmiah. 4(1):37-42.
- Alhassan, A. M., Ahmed, Q. U. 2016. *Averrhoa bilimbi* Linn.: A Review of It's Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences, 8(4):265-271. Diunduh dari <http://doi.org/10.4103/0975-7406.199342> pada tanggal 25 februari 2018.
- Ali, Md., M. Hasanuzzaman., Shornaly Marjan. 2013. Aspect of *Averrhoa bilimbi*: Life-Saving Role as Thrombolytic. LAMP LAMBERT Academic Publishing.
- Ambarwati, 2007. Kajian Actinomycetes yang Berpotensi Menghasilkan Antibiotika dari Rhizosfer Putri Malu (*Mimosa Pudica* L.) dan Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.). Jurnal Sains & Teknologi. Vol. 8(1):1-14.
- Arifulloh. 2013. Ekstraksi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum esculentum* M.) dengan Berbagai Komposisi Pelarut. Skripsi. Universitas Jember. Jember.
- Arora, R., Avijit Mazumder. 2017. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Rhizomes of *Hedychium spicatum*. Pharmacog J. Vol. 9(6)Suppl:s64-s8.
- Aziz, M. A., Shahariar Rahman., Mahfuzul Islam., and Anjuman Ara Begum. 2014. A Comparative Study on Antibacterial Activities and Cytotoxic Properties of Various Leaves Extracts of *Averrhoa Bilimbi* Linn. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 913. IJPSR Vol. 5(3).
- Bhat, S V., B. A Nagasampagi., M. Sivakumar. 2009. Chemistry of Natural Products. Springer Berlin Heidelberg New York. pp 585.
- Chozin. 2006. Peran Ekofisiologi Tanaman dalam Pengembangan Teknologi Budidaya Pertanian (Orasi Ilmiah Guru Besar). Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Czajkowski, R., Perombelon M. C. M., Jafra S., Lojkowska E., Potrykus M., Van der Wolf J. M., Sledz W. 2015. Detection, Identification and Differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* Species Causing Potato Blackleg and Tuber Soft Rot: A Review. Annual Applied Biology 166:18-36.
- Depkes RI. 1989. Materia Medika Jilid V. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Desai, Sapna D., Dhruv G. Desai., Harmeet Kaur. 2009. Saponins and their Biological Activities. Department of Pharmacology, Pioneer Pharmacy Degree College Gujarat. India. Pharma Times. Vol 41(3).

Drive, J. S. 2007. Growers Advice, *Erwinia chrysanthemi* (Dickeya spp.) What It Is, and What You Can Do. British Potato Council Publication. London.

Effendy. 2007. Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid 1. Banyu Media Publishing. Malang.

Elgayyar, M., Draughon A. F., Golden A. D., Mount R. J. 2000. Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants Against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganism. J Food Protection. 64(2):1019-1024.

Elphinstone, J., and Toth I. 2007. *Erwinia chrysanthemi* (Dickeya spp.) The Facts. British Potato Council Publication. London.

Fahrurnnida, P.R. 2012. Kandungan Saponin Buah, Daun dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh *Averrhoa bilimbi* Linn.

Grenier, A. M., Gabrielle D., Sylvie P., Guy C., Yvan R. 2006. The Phytopathogen *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi* 3937) Is a Pathogen of the Pea Aphid. Journal of Applied and Enviromental Microbiology Vol 72(3):1956-1965.

Goering, R., Hazel, D., Mark, Z., Ivan, R., Peter, L.C. 2013. Mims' Medical Microbiology. Fifth Edition. Elsevier Ltd.

Gritter, R J., J. M. Bobbitt, A. E. Schwarting. 1991. Pengantar Kromatografi. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hal 82-84.

Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerjemah K. Padmawinata. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Hasyim, A., Setiawati, Wiwin., Liferdi Lukman. 2015. Inovasi Teknologi Pengendalian OPT Ramah Lingkungan pada Cabai: Upaya Alternatif Menuju Ekosistem Harmonis. Balai Penelitian Tanaman Sayuran Bandung.

Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 1996. Medical Microbiology, Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20. Alih Bahasa Edi Nugroho dan R.F Maulany. EGC. Jakarta.

Khanbabaee, K., Teunis van Ree. 2001. Tannins: Classification and Definition. Fachbereich Chemie und Chemietechnik der Universität Paderborn, Warburger Straße. Paderborn.

Kerr, A. 1980. Bacteria and Mycoplasmas as Plant Parasites. In J. f. Brown. A Course Manual in Plant Protection. Vice-Chancellors' Committee. Brisbane.

Lee, J. H., J.H. Park H. S., Cho S. W., Joo M. H., Cho J. Lee. 2013. Anti-Biofilm Activities of Quercetin and Tannic Acid Against *Staphylococcus aureus*. Biofouling. The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research. Vol 29(5).

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenolpropanoida dan Alkaloida. Karya Ilmiah. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Lim, D. 1998. Microbiology. McGraw-hill book. New York.

Lulail, J. 2009. Kajian Hasil Riset Potensi Antioksidan di Pusat Informasi Teknologi Pertanian Fateta IPB serta Aplikasi Ekstrak Bawang Putih, Lada dan Daun Sirih pada Dendeng Sapi. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Maradona, D. 2013 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* L), Daun Lengkek (*Dimocarpus longan* Lour), dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Markham, K. R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Ma'sum J., Isnaini, R. Primaharinastiti., F Annuryanti. 2014. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Tomat Segar dan Pasta Tomat terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazyl (DPPH). Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia. Fakultas Farmasi. Universitas Airlangga. Vol.1(2).

Mokhtar, S. I., Aziz N. A. A. 2016. Antimicrobial Properties of *Averrhoa bilimbi* Linn. Extracts at Different Maturity Stages. J Med Microb Diagn 5:233.

Muhamad, N., Siti Aishah Muhmed., Mashita M. Yusoff., Jolius Gim bun. 2015. Influence of Solvent Polarity and Conditions on Extraction of Antioxidant, Flavonoids and Phenolic Content from *Averrhoa bilimbi* Linn. Universiti Sultan Zainal Abidin. Malaysia.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. Jurnal Kesehatan Vol. 7(2).

Naidu, A. S. 2000. Natural Food Antimicrobial Systems. CRC Press. USA.

Noer, S., Rosa Dewi Pratiwi., Efri Gresinta. 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid sebagai Kuersetin) pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). Journal of Food Science and Engineering 4(2014):255-260. Universitas Indraprasta PGRI. Jakarta.

Nugrahawati, D. 2009. Pemanfaatan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) sebagai Cairan Akumulator Secara Alami dan Ramah Lingkungan. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Parikesit, M. 2011. Khasiat dan Manfaat Belimbing Wuluh. Stomata. Surabaya.

Parekh, J., D. Jadeja D., S. Chanda. 2005. Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of some Medicinal Plants for Potential Antibacterial Activity. Turk J Biol 29:203–210.

Pelczar, M. J., Chan E. S. C. 2008. Dasar-Dasar Mikrobiologi 2. Ratna S.H dkk. Penerjemah: UI Press. Jakarta. Terjemahan dari: Elements of Microbiology.

Penn State College of Agricultural Sciences Research. 2007. The Pennsylvania State University. Pennsylvania. Diunduh dari <http://extension.psu.edu> tanggal 20 Januari 2018.

Permatasari, G. A. A. A., Besung I. N. K., Mahatmi H. 2013. Daya Hambat Perasan Daun Sirsak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Indonesia Medicus Veterinus Vol. 2(2):62-169.

Prashant. 2011. Phytochemical Screening and Extraction. Internationale Pharmaceutica Scientia. 1(1):1-9.

Pratiwi, S.T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.

Rahayu, S., Nunung Kurniasih, Vania Amalia. 2015. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Bawang Merah sebagai Antioksidan Alami. Jurusan Kimia. UIN Sunan Gunung Djati. Bandung.

Rahman. 2011 dalam Wulandari M. A., Trishardayanti D. K., Ika Melannisa., Rosita. 2013. Potensi Antibakteri dan Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Belimbing wuluh (*Cerbera odollam* Gaertn.) terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Universitas Surakarta. Surakarta.

Redha, A. 2010. Flavonoid Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. Jurnal Belian Vol. 9(2):196-202. Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak.

Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Diterjemahkan oleh Kosasih, P. Edisi 6:72, 157, 198. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Rohman, A., S. Riyanto. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L. Jack) secara In Vitro. Majalah Farmasi Indonesia. Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Rumiantin, R. O. 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun *Enhalus acoroides*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Samad, S. 2008. Perbandingan Efek Antibakteri dari Jus Belimbing (*Averrhoa carambola*) terhadap *Streptococcus mutans* pada Waktu Kontak dengan Konsentrasi yang Berbeda. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro. Semarang.

Samson, R., Legendre J.B., Christen, R., Fischer-Le Saux M, Achouak W, Gardan L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al., 1953) Brenner I. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to The Genus *Dickeya* Gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* Comb. nov and *Dickeya paradisiaca* Comb. nov. and Delineation of Four Novel Species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55:1415-27.

Sirait, M. 2007. Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. ITB. Bandung.

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.

Toth, I. K., Van der Wolf J. M., Saddler G, Lojkowska E., He'lias V., Pirhonen M., Tsrer (Lahkim) L. Elphinstone J. G. 2011. Dickeya Species: an Emerging Problem for Potato Production in Europe. Plant Pathology 1-15 doi: 10.1111/j.1365-3059.2011.02427.

Sanjaya, L., Kurnia Yulianto. 2015. Budidaya Krisan. Balai Penelitian Tanaman Hias. Bogor.

Suprpta, D. N. 2003. Pemanfaatan Tumbuhan Lokal sebagai Pestisida Nabati Guna Meningkatkan Kemandirian Petani. Orasi Ilmiah Universitas Udayana. Bali.

Schaad, N. W., Jones J. B., dan Chun W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. Ed. Ketiga. APS Press. St. Paul Minnessota.

Simion, C. 2012. *Chrysanthemum indicum*. Diunduh dari <http://greenlifeuniverse.com> pada tanggal 22 Januari 2017.

Syakir, M. 2011. Status Penelitian Pestisida Nabati. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan. Badan Penelitian dan Pengembangan pertanian. Bogor.

Viswanath, H. S., K. A. Bhat., N. A. Bhat., T. A. Wani., and Mohammed Najeeb Mughal. 2018. Antibacteria Efficacy of Aqueous Plant Extracts Against Storage Soft Rot of Potato Caused by *Erwinia carotovora*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. University of Agricultural Sciences and Technology. Kashmir. India.



LAMPIRAN



Gambar lampiran 1. Hasil Perbanyakan Isolat Murni Bakteri Patogen Busuk Lunak *E. chrysanthemi*



Gambar lampiran 2. Pembuatan Suspensi Bakteri Dengan Seri Pengenceran 10^8 cfu/ml



Gambar lampiran 3. Proses Ekstraksi Dengan Rotary Vacuum Evaporator



Gambar lampiran 4. Hasil Ekstraksi Dengan Metode Maserasi

Tabel Lampiran 1. Hasil Pengamatan Zona Hambat Selama Tiga Hari Setelah Inokulasi

Perlakuan	Hari Pengamatan			Perlakuan	Hari Pengamatan			Perlakuan	Hari Pengamatan		
	1 HSI	2 HSI	3 HSI		1 HSI	2 HSI	3 HSI		1 HSI	2 HSI	3 HSI
KNAQ	0,00	0,00	0,00	EDBW5	14,50	14,00	8,75	EBBW3	4,75	4,00	3,75
KNAQ	0,00	0,00	0,00	EDBW5	12,50	12,00	7,50	EBBW3	5,00	5,00	4,50
KNAQ	0,00	0,00	0,00	EDBW5	14,50	12,00	7,50	EBBW3	5,25	4,50	4,25
KNAQ	0,00	0,00	0,00	EDBW5	14,75	14,25	7,75	EBBW3	5,75	5,50	5,50
KNAL	0,00	0,00	0,00	EDBW6	9,50	9,00	8,75	EBBW4	5,50	4,50	4,00
KNAL	0,00	0,00	0,00	EDBW6	10,50	10,00	9,00	EBBW4	9,50	7,00	6,75
KNAL	0,00	0,00	0,00	EDBW6	10,50	10,00	9,50	EBBW4	5,50	4,00	3,75
KNAL	0,00	0,00	0,00	EDBW6	7,75	7,25	6,50	EBBW4	6,50	4,75	4,25
KPCP	19,50	18,00	17,75	EDBW7	11,25	11,00	10,50	EBBW5	8,75	6,50	6,00
KPCP	19,50	18,50	18,00	EDBW7	10,75	10,50	9,75	EBBW5	7,00	5,50	5,50
KPCP	20,00	19,50	19,00	EDBW7	13,00	10,50	10,50	EBBW5	10,00	6,75	6,75
KPCP	20,00	19,00	18,25	EDBW7	11,50	11,50	10,75	EBBW5	10,50	8,00	7,25
EDBW1	3,50	2,75	2,25	EDBW8	12,00	11,25	11,00	EBBW6	10,00	7,75	7,50
EDBW1	5,00	4,25	4,25	EDBW8	10,50	10,25	9,75	EBBW6	9,25	7,25	7,00
EDBW1	3,25	2,50	2,50	EDBW8	16,00	14,75	12,50	EBBW6	8,00	6,75	6,25
EDBW1	3,25	2,75	2,50	EDBW8	12,00	10,50	10,50	EBBW6	8,75	7,50	6,50
EDBW2	5,75	5,25	4,75	EDBW9	12,50	11,75	11,50	EBBW7	9,00	8,00	8,00
EDBW2	6,50	5,75	5,50	EDBW9	13,00	12,50	12,00	EBBW7	8,75	7,00	6,75
EDBW2	5,75	5,50	5,50	EDBW9	13,75	13,00	12,50	EBBW7	8,25	5,75	5,75
EDBW2	5,75	5,75	5,50	EDBW9	11,25	10,75	10,75	EBBW7	8,25	7,25	7,25
EDBW3	7,75	7,00	6,50	EBBW1	1,75	1,25	1,25	EBBW8	9,50	9,00	8,50
EDBW3	7,00	6,00	5,75	EBBW1	1,75	1,50	1,50	EBBW8	9,25	8,50	8,25
EDBW3	7,00	6,25	5,75	EBBW1	1,75	1,75	1,75	EBBW8	9,00	7,25	7,25
EDBW3	6,75	6,25	6,25	EBBW1	2,25	2,25	2,25	EBBW8	10,00	8,25	8,00
EDBW4	5,00	5,00	5,00	EBBW2	2,75	2,50	2,25	EBBW9	13,75	10,50	10,50
EDBW4	8,25	8,00	7,25	EBBW2	4,50	4,25	3,50	EBBW9	12,00	8,75	8,75
EDBW4	8,00	7,50	5,75	EBBW2	4,00	3,50	3,00	EBBW9	14,75	12,25	11,75
EDBW4	8,25	7,50	7,25	EBBW2	4,50	3,50	3,25	EBBW9	10,50	6,75	6,75

Keterangan: KNAQ; Kontrol negatif akuades, KNAL; Kontrol negatif etanol 96% ; sebagai pelarut ekstrak, KPCP; Kontrol positif antibiotik kloramfenikol, EDBW; ekstrak daun belimbing wuluh, EBBW; ekstrak buah belimbing wuluh

Tabel Lampiran 2. Hasil Rerata Total Zona Hambat Selama Tiga Hari Inokulasi

Perlakuan	Rerata Diameter Zona Hambat Hari ke-			Rerata Total
	H-1	H-2	H-3	
KNAQ	0,00	0,00	0,00	0,00
KNAL	0,00	0,00	0,00	0,00
KPCP	19,75	18,75	18,31	18,94
EBBW1	1,87	1,68	1,68	1,74
EBBW2	3,93	3,43	3,00	3,45
EBBW3	5,18	4,75	4,50	4,81
EBBW4	6,75	5,06	4,68	5,50
EBBW5	9,06	6,62	6,31	7,33
EBBW6	9,00	7,31	6,81	7,71
EBBW7	8,56	7,00	6,93	7,50
EBBW8	9,43	8,25	8,00	8,56
EBBW9	12,68	9,56	9,43	10,56
EDBW1	3,75	3,06	2,87	3,23
EDBW2	6,56	5,56	5,18	5,77
EDBW3	7,12	6,37	6,06	6,52
EDBW4	7,37	7,00	6,31	6,89
EDBW5	14,06	13,06	7,87	11,66
EDBW6	9,56	9,06	8,43	9,02
EDBW7	11,62	10,83	10,33	10,93
EDBW8	12,62	11,68	10,93	11,74
EDBW9	12,62	12,00	11,68	12,10

Keterangan: KNAQ; Kontrol negatif akuades, KNAL; Kontrol negatif etanol 96% ; sebagai pelarut ekstrak, KPCP; Kontrol positif antibiotik kloramfenikol, EDBW; ekstrak daun belimbing wuluh, EBBW; ekstrak buah belimbing wuluh

Tabel Lampiran 3. Analisis Ragam Uji Daya Hambat 1 HSI

Sumber keragaman	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	Signifikansi
Perlakuan	20	94,95	78,07	0,00
Galat	63	1,21		
Total	83			

Keterangan: Apabila nilai $F_{\text{Hitung}} > F_{\text{Tabel}}$ dan nilai Signifikansi $< 0,05$, maka respon dari perlakuan dan kelompok berbeda nyata

Tabel Lampiran 4. Analisis Ragam Uji Daya Hambat 2 HSI

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	Signifikansi
Perlakuan	20	82,84	75,76	0,00
Galat	63	1,09		
Total	83			

Keterangan: Apabila nilai $F_{\text{Hitung}} > F_{\text{Tabel}}$ dan nilai Signifikansi $< 0,05$, maka respon dari perlakuan dan kelompok berbeda nyata

Tabel Lampiran 5. Analisis Ragam Uji Daya Hambat 3 HSI

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	Signifikansi
Perlakuan	20	71,60	90,19	0,00
Galat	63	0,79		
Total	83			

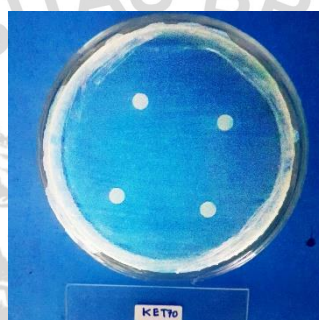
Keterangan: Apabila nilai $F_{\text{Hitung}} > F_{\text{Tabel}}$ dan nilai Signifikansi $< 0,05$, maka respon dari perlakuan dan kelompok berbeda nyata

Tabel Lampiran 6. Analisis Ragam Total Flavonoid Ekstrak Belimbing Wuluh

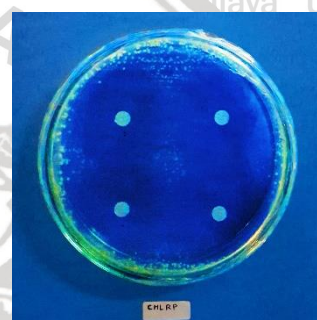
Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	F Hitung	Signifikansi
Regresi	1	0,30	2.201,85	2.13E-05
Galat	3	0,000138		
Total	4			



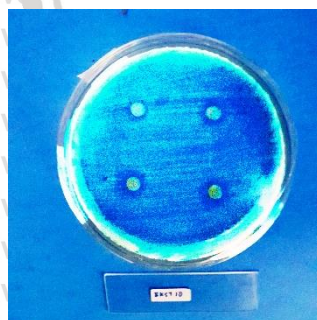
A



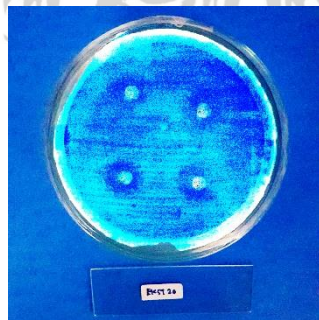
B



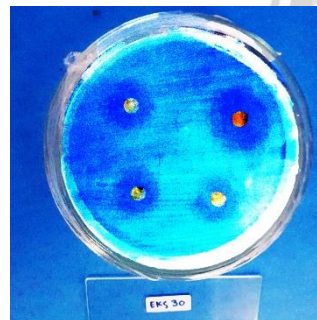
C



D



E



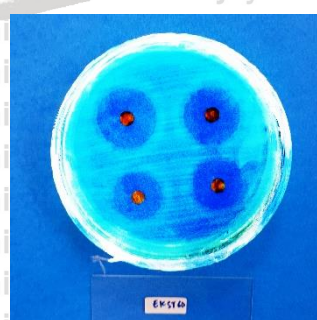
F



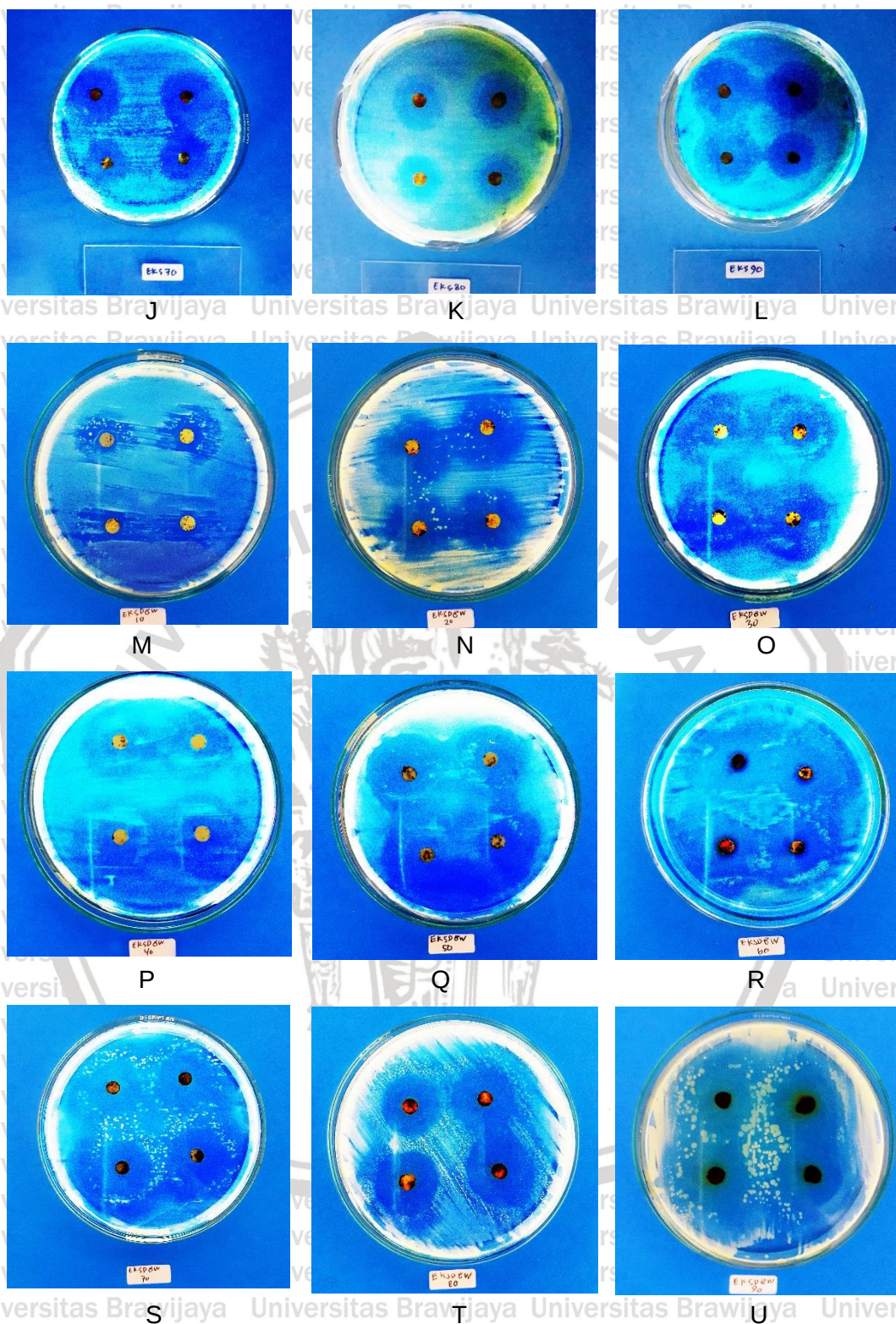
G



H



I



Gambar lampiran 5. Hasil Uji Efektivitas Terhadap pertumbuhan Bakteri *E. chrysanthemi* 3HSI. A: Akuades; B: Etanol 96%; C: Kloramfenikol 25 µg/g; D: Buah 10%; E: Buah 20%; F: Buah 30%; G: Buah 40%; H: Buah 50%; I: Buah 60%; J: Buah 70%; K: Buah 80%; L: Buah 90%; M: Daun 10%; N: Daun 20%; O: Daun 30%; P: Daun 40%; Q: Daun 50%; R: Daun 60%; S: Daun 70%; T: Daun 80%; U: Daun 90

No.	Nama Sampel	Berat Sampel	Volume (ml)				Absorbansi			TKR	FP	THT	Kadar
		(g)	Metanol (1)	Sampel (ml)	Metanol (2)	Sampel+Metanol (2)	I	II	Rerata	(µg/ml)	(ml)	(µg/g)	(%)
1	Buah	0,26	2	0,20	5	5,20	0,17	0,17	0,17	2.232	26,00	444	0,04
		0,26	2	0,30	5	5,30	0,22	0,22	0,22	2.858	17,67	387	0,04
		0,26	2	0,40	5	5,40	0,32	0,32	0,32	4.124	13,50	426	0,04
2	Daun	0,23	2	0,05	5	5,10	0,32	0,32	0,32	4.042	101,00	3.494	0,35
		0,23	2	0,10	5	5,10	0,62	0,62	0,62	7.884	51,00	3.441	0,345
		0,23	2	0,15	5	5,20	0,83	0,83	0,83	10.649	34,33	3.129	0,31

Tabel Lampiran 7. Hasil Pengukuran Total Flavonoid