

**POTENSI BIOSIDA EKSTRAK BUAH DAN DAUN BELIMBING WULUH
PADA PERTUMBUHAN BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO***



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Jurusan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan**

Diajukan Oleh :

MONICA ARAFANI HANIDA

A420130138

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

2017

HALAMAN PERSETUJUAN

**POTENSI BIOSIDA EKSTRAK BUAH DAN DAUN BELIMBING WULUH
PADA PERTUMBUHAN BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO***

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

Monica Arafani Hanida

A420130138

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Surakarta, 24 Juli 2017

Dosen Pembimbing



Triastuti Rahayu, S.Si, M.Si

NIDN.0615027401

PENGESAHAN

**POTENSI BIOSIDA EKSTRAK BUAH DAN DAUN BELIMBING WULUH
PADA PERTUMBUHAN BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO***




OLEH

Monica Arafani Hanida

A420130138

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Jum'at, 04 Agustus 2017
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dewan Penguji:

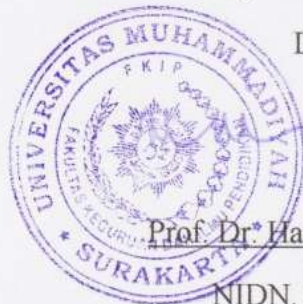
1. Triastuti Rahayu, S.Si, M.Si ()
(Ketua Dewan Penguji)
2. Dra. Aminah Asngad, M.Si ()
(Anggota I Dewan Penguji)
3. Dra. Suparti, M.Si ()
(Anggota II Dewan Penguji)

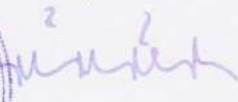
Surakarta,

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Dekan,




Prof. Dr. Harun Joko Prayitno

NIDN. 0028046501

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 24 Juli 2017



Monica Arafani Hanida

A420130138

POTENSI BIOSIDA EKSTRAK BUAH DAN DAUN BELIMBING WULUH PADA PERTUMBUHAN BIJI KACANG HIJAU SECARA *IN VITRO*

Abstrak

Masalah yang sering muncul dalam kultur *in vitro* adalah kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri atau jamur. Umumnya kontaminasi dapat dicegah menggunakan PPM (*Plant Preservative Mixture*) sebagai antimikroba. Salah satu manfaat daun dan buah belimbing wuluh dapat digunakan sebagai antimikroba karena mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbandingan potensi biosida antara ekstrak buah dan daun belimbing wuluh untuk mencegah kontaminasi pada kultur *in vitro*. Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktor yaitu faktor 1 : daun belimbing wuluh (B₁); buah belimbing wuluh (B₂) dan faktor 2 : konsentrasi ekstrak 0,5% (K₁) ; konsentrasi ekstrak 1% (K₂). Ekstraksi buah dan daun belimbing wuluh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Parameter yang digunakan selama 7 hari kondisi kecambah, jumlah daun, tinggi batang, dan persentase media yang tidak terkontaminasi. Persentase media yang tidak terkontaminasi pada perlakuan B₁K₁, B₁K₂, B₂K₁, dan B₂K₂ berturut-turut sebesar 80%, 60%, 100%, 100%. Kondisi kecambah pada B₁K₁ dan B₂K₁ normal, sedangkan B₁K₂ dan B₂K₂ abnormal. Ekstrak daun belimbing wuluh 0,5% efektif sebagai biosida pada kultur *in vitro* dibandingkan ekstrak buah belimbing wuluh.

Kata kunci: *in vitro*, antimikroba, daun dan buah belimbing wuluh

Abstract

Problems which often appear in *in vitro* cultures are contamination caused by bacteria or fungi. Generally, contamination is able to be prevented by using PPM (Plant Preservative Mixture) as an antimicrobial. One of the benefits of leaves and fruits belimbing wuluh can be used as antimicrobial contain of saponin, flavonoids, tannins, and triterpenoids. The purpose of this research is to determine the potential comparison of biocide between fruit extract and leaves extract of belimbing wuluh to prevent contamination of *in vitro* cultures. The research design uses a complete randomized design (RAL) of 2 factors: factor 1: bilimbi's leave (B₁); bilimbi's fruit (B₂) and factor 2: 0,5% extract concentration (K₁); 1% extract concentration (K₂). Fruit extract and leave extract of belimbing wuluh by maceration method using ethanol solvents 96%. Parameters used for 7 days are sprout condition, amount of leaves, stem height, and percentage of uncontaminated media. The percentage of uncontaminated media on treatment of B₁K₁, B₁K₂, B₂K₁, dan B₂K₂ are 80%, 60%, 100%, 100%. Sprout condition in B₁K₁ dan B₂K₁ is normal, while B₁K₂ dan B₂K₂ is abnormal. Leaves extract 0,5% of belimbing wuluh effective as biocide in *in vitro culture* than fruit extract of belimbing wuluh.

Keywords: *in vitro*, antimicrobial, leaves and fruit belimbing wuluh.

1. PENDAHULUAN

Salah satu teknik perbanyakan vegetatif yaitu kultur jaringan tanaman/*tissue culture/in vitro*. Teknik kultur jaringan merupakan perbanyakan tanaman dengan menggunakan sel atau jaringan tanaman yang aktif dan ditumbuhkan pada media buatan (Rahardja dan Wiryanta, 2003) yang mengandung nutrisi dan hormon. Tanaman yang ditumbuhkan dalam teknik kultur jaringan haruslah dalam lingkungan yang steril agar media tanaman tidak terkontaminasi.

Media kultur tanaman dapat mempengaruhi pertumbuhan pada eksplan tanaman. Beberapa jenis media yang digunakan pada tanaman seperti MS, VW, dan WPM. *Woody Plant Medium* (WPM) digunakan untuk tanaman yang berkayu, *Murashige-Skoog* (MS) dapat digunakan untuk pertumbuhan biji, dan media *Vacin Went* (VW) untuk tanaman anggrek.

Rendahnya tingkat keberhasilan pada teknik ini terjadi akibat kontaminasi media tanam. Pencegahan terhadap kontaminasi pada media tanam dapat dilakukan dengan sterilisasi alat/bahan dan penambahan PPM (*Plant Preservative Mixture*). PPM merupakan salah satu bahan biosida dalam kultur cair termasuk golongan isotiazolon yang dapat menghambat mikroba dan jamur (Sharaf Eldin & Weathers, 2006). Harga 1 ml PPM Rp. 65.000,- dan membutuhkan $\frac{1}{2}$ ml per liter media. Penambahan PPM pada media yang digunakan menyebabkan tingginya biaya produksi dan stok tidak selalu ada, sehingga membutuhkan alternatif lain dengan cara menggunakan bahan alami yang memiliki sifat menghambat kontaminasi dari bakteri maupun jamur.

PPM (*plant preservative mixture*) dapat digantikan dengan daun dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) karena mengandung antibakteri. Ekstrak daun dan buah belimbing wuluh terdiri dari tanin, saponin, triterpenoid, dan flavonoid memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri (Anggraini dan Saputra, 2016), antioksidan, dan antimikroba (Kumar, *et al.* 2013). Roy, *et al.* (2011) menyatakan bahwa ekstrak daun dan buah efektif sebagai antibakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella esnteritidis*.

Adanya kontaminasi pada ekstrak buah belimbing wuluh dengan cara infundasi/perebusan dari penelitian Husniah (2016), disarankan menggunakan cara ekstrak maserasi. Metode maserasi mampu mengisolasi senyawa bahan dengan cara metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma bahan terlarut ke dalam pelarut (Lestari dan Kurniawaty, 2016). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut. Rasio bahan dan pelarut 1:5 merupakan perlakuan terbaik (Pendit, 2016). Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan yaitu untuk mengetahui perbandingan potensi biosida antara ekstrak buah dan daun belimbing wuluh untuk mencegah kontaminasi pada kultur *in vitro*.

2. METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman FKIP Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian dilakukan bulan Maret - Juli 2017. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan dua faktor

perlakuan: asal ekstrak berupa daun dan buah belimbing wuluh dan konsentrasi (0,5% dan 1%). Cara ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:5. Biji kacang hijau ditanam dalam botol media kultur yang berisi MS dan tambahan ekstrak buah dan daun belimbing wuluh, serta diberi penambahan PPM sebagai kontrol positif. Data di analisis menggunakan analisis deskriptif kuantitatif dan kualitatif.

Alat yang digunakan yaitu Petridish, LAF (*Laminar Air Flow*), pisau, sprayer, pengaduk kaca, timbangan digital, pinset, *beaker glass* (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), *hot plate magnetic stirrer*, mikropipet, corong, pembakar spirtus, botol kultur, botol maserasi, destilator, *erlenmeyer* 250 ml (*Pyrex*), *erlenmeyer* 1000 ml (*Pyrex*), *autoclave*. Sedangkan bahan yang digunakan meliputi Buah muda dan daun muda belimbing wuluh, biji kacang hijau, agar-agar (*swallow*), media MS (*Murashige-Skoog*), kertas payung, kertas saring, aluminium foil, *tissue*, *plastic wrap*, spirtus, etanol 96%, *aquades*, gula pasir, alkohol 70%, pH *stick*, NaOH 1 N.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang telah dilaksanakan memperoleh data yang akan digunakan sebagai perbandingan potensi biosida antara ekstrak buah dan daun belimbing wuluh untuk mencegah kontaminasi pada kultur *in vitro*. Data dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Data persentase media yang tidak terkontaminasi dan pertumbuhan kecambah biji kacang hijau secara *in vitro*.

Perlakuan	Media yang Tidak Terkontaminasi (%)	Rata-rata Pertumbuhan Kecambah Biji Kacang Hijau		Kondisi Kecambah
		Tinggi Batang (cm)	Jumlah daun (helai)	
		B₁K₂ (ekstrak daun 0,5%)	80	
B₁K₃ (Ekstrak daun 1%)	60	2,7	2	Abnormal
B₂K₂ (Ekstrak buah 0,5%)	100	4,7	2	Normal
B₂K₃ (Ekstrak buah 1%)	100	0,88	2	Abnormal
Kontrol –	20	7,04	2	Normal
Kontrol +	80	9,30	2	Normal

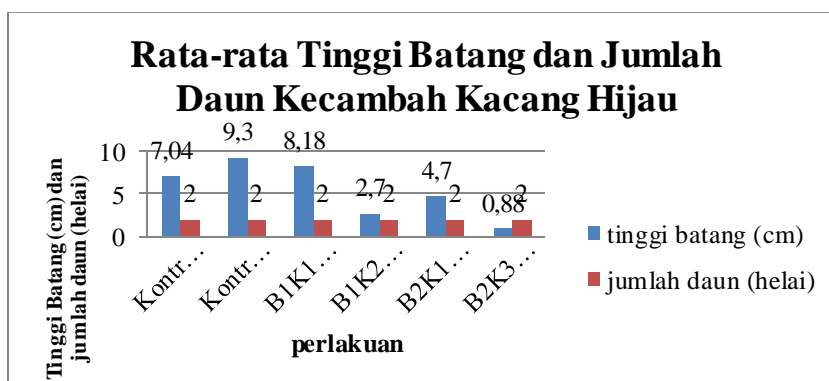
Berdasarkan data 1 persentase media yang tidak terkontaminasi pada kontrol negatif paling rendah yaitu 20% dibandingkan dengan perlakuan lain (Tabel 1). Selain kontrol negatif, penelitian ini menggunakan kontrol positif (penambahan PPM pada media MS). Kegunaan penambahan bahan pada media kultur berupa PPM untuk mengurangi kontaminasi

media yang disebabkan oleh bakteri maupun jamur. PPM merupakan salah satu bahan biosida cair termasuk golongan isotiazolon yang mampu menghambat mikroba dan jamur dalam kultur (Sharaf Eldin & Weathers, 2006). Hal ini dapat dilihat pada tabel 1 kontrol positif memiliki persentase media yang tidak terkontaminasi cukup tinggi yaitu 80%.

Sebagai pengganti fungsi PPM, penelitian ini menggunakan penambahan ekstrak daun dan buah belimbing wuluh pada media dengan konsentrasi 0,5% dan 1%. Adapun syarat pengganti fungsi PPM yaitu persentase media yang tidak terkontaminasi tinggi dan pertumbuhan eksplan tidak terganggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan memiliki persentase media yang tidak terkontaminasi lebih baik atau hampir sama dengan kontrol positif (tabel 1). Melihat hasil dari perlakuan, media yang tidak terkontaminasi paling baik pada perlakuan media dengan penambahan ekstrak buah belimbing wuluh dibandingkan dengan daun belimbing wuluh (Gb. 1).

Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, tanin, dan triperpenoid sehingga memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus* mutans (Liantari, 2014). Penelitian yang dilakukan Mokhtar and Aziz (2016), buah belimbing wuluh dengan tingkat kematangan berbeda mampu menghambat bakteri gram positif berupa *S. aureus* dan *B. cereus*, dan gram negatif yaitu *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella spp.* Kandungan yang terdapat pada buah belimbing wuluh yaitu saponin, flavonoid, tanin, dan triterpenoid (Kumar, *et al.* 2013).

Kontaminasi pada penelitian disebabkan adanya pertumbuhan jamur. Jenis kontaminasi dapat dikenali dari penampilan fisik, seperti jamur memiliki permukaan yang kasar dan kadang terdapat serat hifa (K. Karjadi, 2008). Kontaminasi media terjadi karena pemilihan eksplan kurang teliti. Eksplan yang digunakan dibeli warung kelontong tidak langsung dalam kemasan plastik. Selain eksplan sterilisasi ruangan juga mempengaruhi kontaminasi.



Gambar 1 Histogram tinggi batang dan jumlah daun kecambah kacag hijau

Gambar 1 menunjukkan bahwa adanya variasi terhadap tinggi perkecambahan biji kacang hijau. Perlakuan media tanaman yang berbeda berupa media kontrol (-), kontrol (+), penambahan ekstrak daun dan buah belimbing wuluh berpengaruh terhadap perkecambahan tinggi tanaman. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan paling baik yaitu pada perlakuan B₁K₁, karena rata-rata tinggi tanaman hampir sama dengan kontrol positif (Gb. 1).

Perbedaan tinggi tanaman dapat disebabkan oleh media yang digunakan, konsentrasi penambahan ekstrak, kondisi eksplan, dan lingkungan tumbuh. Penambahan agar dengan konsentrasi tinggi, media akan keras dan sedikit mengandung air, sehingga difusi tanaman menjadi terhambat. Apabila unsur hara tidak tersedia maka pertumbuhan tidak maksimal. Tinggi kecambah kacang hijau terhambat karena media mengandung senyawa tanin atau hidroksi fenol dengan konsentrasi tinggi (Hutami, Sri 2008).



Gambar 2 Pertumbuhan Kecambah Biji Kacang Hijau

- | | |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------|
| (a) Kontrol negatif | : media MS tanpa PPM |
| (b) Kontrol positif | : media MS dengan penambahan PPM |
| (c) B ₁ K ₁ | : media MS dan ekstrak daun belimbing wuluh 0,5% |
| (d) B ₁ K ₂ | : media MS dan ekstrak daun belimbing wuluh 1% |
| (e) B ₂ K ₁ | : media MS dan ekstrak buah belimbing wuluh 0,5% |
| (f) B ₂ K ₂ | : media MS dan ekstrak buah belimbing wuluh 1% |

Paramater selain tinggi tanaman yaitu jumlah daun. Semua perlakuan memiliki jumlah daun yang seragam yaitu 2 helai (Gb. 2). Perlakuan media yang berbeda berupa penambahan ekstrak daun belimbing wuluh, daun belimbing wuluh, dan kontrol (+) maupun kontrol (-) tidak berpengaruh terhadap jumlah daun kecambah kacang hijau.

Pada gambar 2d dan 2f menunjukkan kondisi kecambah abnormal dengan ditandai akar yang pendek, tumbuhan kerdil. Menurut Purnobasuki (2011) kecambah yang normal ditandai dengan sistem perakaran yang baik terutama akar primer dan sekunder, hipokotil sempurna tanpa ada kerusakan pada jaringan, plumula yang sempurna dengan daun berwarna

hijau. Kecambah yang abnormal dimana kecambah rusak, tidak memiliki kotiledon, akar primer yang pendek, bentuk cacat, dan perkembangannya yang lemah.

4. PENUTUP

Dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh 0,5% efektif sebagai biosida pada kultur *in vitro* dari pada ekstrak buah belimbing wuluh.

Dari hasil kesimpulan, maka peneliti memberikan saran sebagai berikut:

Dalam penelitian, sebaiknya ekstrak daun dan buah belimbing wuluh disajikan dalam bentuk serbuk agar lebih mudah digunakan.

Diharapkan dalam penelitian selanjutnya, menurunkan konsentrasi ekstrak yang akan digunakan.

Media ekstrak daun dan buah belimbing wuluh diujicobakan pada eksplan lain, seperti kultur tunas dan kultur kalus secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Angraini, Nur dan Saputra, Oktadoni. 2016. “ Khasiat Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penyembuhan *Acne vulgaris*”. *Majority*. Volume 5. Nomor 1. Halaman: 76-80.
- Husniah, Salisatul, dan Rahayu, Triastuti. 2016. “ Efektivitas Daun Belimbing Wuluh untuk Menghambat Kontaminasi pada Pertumbuhan Biji Kacang Hijau secara *In Vitro*. [Skripsi]. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hutami, Sri. 2008. “Ulasan Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan”. *Jurnal AgroBiogen*. 4(2):83-88.
- K. Karjadi, A. dan A. Buchory. 2008. “Pengaruh Komposisi Media Dasar, Penambahan BAP, dan Pikloram terhadap Induksi Tunas Bawang Merah”. *J. Hort*. 18(1):1-9
- Kumar, K. Ashok, etc. 2013. “ A Review on Phytochemical Constitutens and Biological Assays of *Averrhoa bilimbi*”. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Reseach*. 3(4). 136-139.
- Lestari, eka Endah dan Kurniawaty, Evi. 2016. “ Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai Pengobatan Diabetes Melitus”. *Jurnal Majority*. Volume 5. Nomor 2. Halaman: 32-36.
- Liantari, Diah Septia. 2014. “Effect of Wuluh Starfruit Leaf Extract for *Streptococcus Mutans* Growth”. *J Majority*. Volume 3. Nomor 2. Halaman:27-33.

- Pendit, Putu Ayu Chintia Devi, dkk. 2016. “ Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)”. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4. No. 1. Hal: 400-409.
- Purnobasuki, Hery. 2011. Perkecambahan. Jakarta: Grafindo.
- Rahardja, P.C., dan Wiryanta. 2003. Aneka Cara Memperbanyak Tanaman. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Roy, Anitha, etc. 2011.” *Averrhoa bilimbi*-Nature’s Drug Store –A Pharmacological Review”. *International Journal of Drug Development & Research*. Vol. 3. Issue 3. Pp: 101-106.
- Sharaf, E. MA., & Weathers, P. 2006. “Movement and Containment of Microbial Contamination in The Nutrient Mist Bioreactor”. *In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant*. Volume 42(6). Pp: 553-557.