



**PENGARUH KOMBUCHA SARI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI BUKU NON-TEKS**

**SKRIPSI**

Oleh :

Yuly Diyan Nur Fajriyah  
NIM 110210103043

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**PENGARUH *KOMBUCHA* SARI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI BUKU NON-TEKS**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Program Studi Pendidikan Biologi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh :

Yuly Diyan Nur Fajriyah  
NIM 110210103043

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

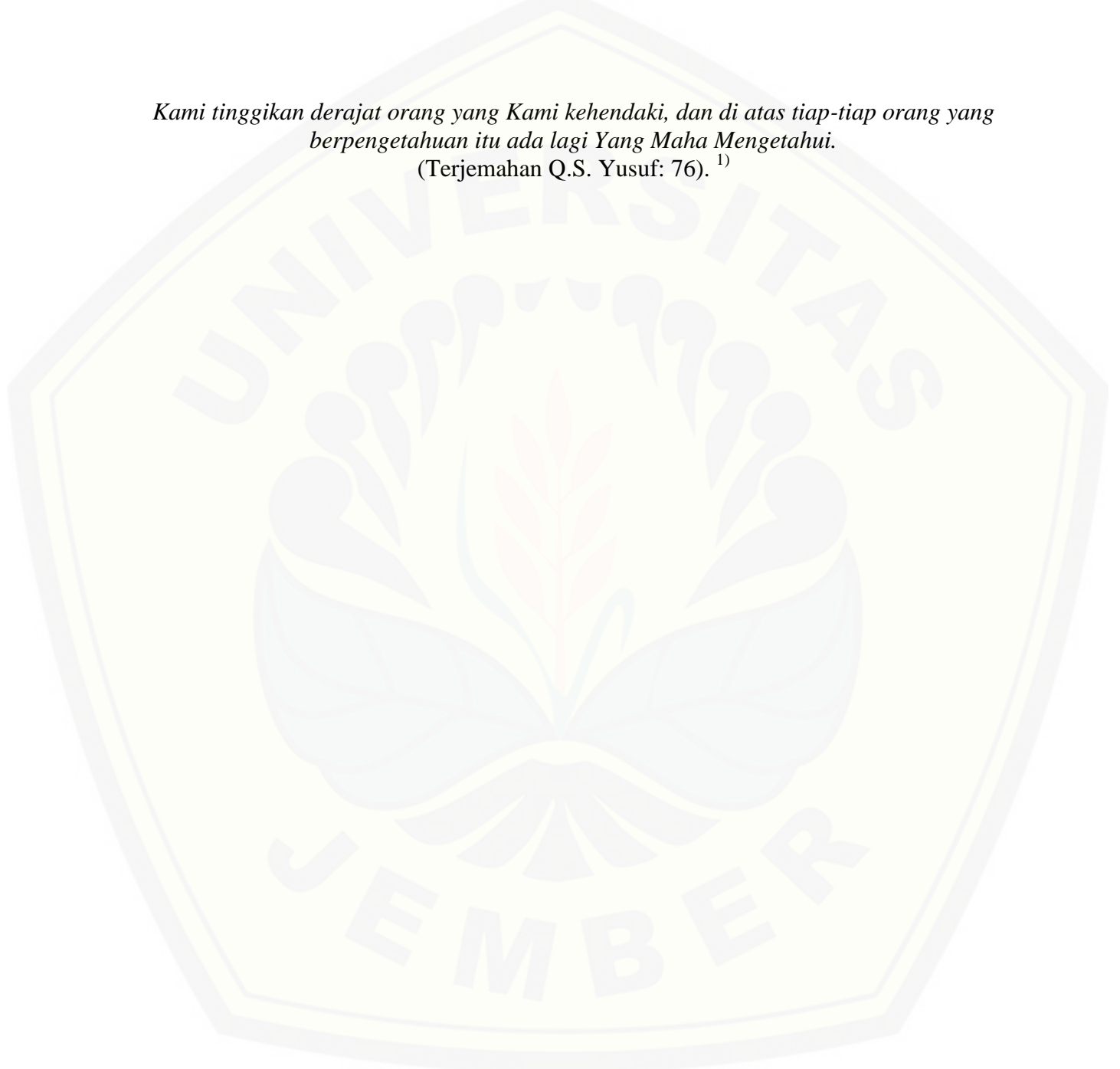
Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih dan Penyayang, saya persembahkan skripsi ini dengan segala cinta dan kasih kepada:

1. Ibunda Mardleyah, Ayahanda Ahmad Mufti yang tiada lelah mendukung setiap langkahku, mendidik dan membesarkanku dengan cinta dan kasih sayang, memberi motivasi yang tiada henti, pengorbanan baik moral dan materi yang tak akan pernah bisa aku balas serta do'a yang selalu mereka panjatkan di tiap sujudnya.
2. Keluarga Besar Mbah Adnan dan Mbah Akhyar dan Adik-adikku; Yeyen, Irwan, Kimmy, dan Bagus yang selalu memotivasiku dengan canda tawanya meskipun seringkali bertengkar ketika sudah berkumpul.
3. Seluruh guru-guru dari TK, SD, MTS, SMA, dan PTN yang telah memberikan ilmunya.
4. Almamater Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember yang aku banggakan.

**MOTTO**

*Kami tinggikan derajat orang yang Kami kehendaki, dan di atas tiap-tiap orang yang  
berpengetahuan itu ada lagi Yang Maha Mengetahui.*

(Terjemahan Q.S. Yusuf: 76). <sup>1)</sup>



---

<sup>1)</sup> CV Diponegoro. 2007. Al-Hikmah: Al Quran dan Terjemahannya. Bandung  
Diponegoro

**PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Yuly Diyan Nur Fajriyah

NIM : 110210103043

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, September 2015

Yang menyatakan,

Yuly Diyan Nur F.

NIM 110210103043

**SKRIPSI**

**PENGARUH *KOMBUCHA* SARI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI BUKU NON-TEKS**

Oleh

Yuly Diyan Nur Fajriyah

NIM 110210103043

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.

Dosen Pembimbing Anggota : Siti Murdiah, S.Pd., M.Pd.

**PERSETUJUAN**

**PENGARUH *KOMBUCHA* SARI BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI BUKU NON-TEKS**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Biologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan

Oleh

Nama Mahasiswa : Yuly Diyan Nur Fajriyah  
NIM : 110210103043  
Jurusan : Pendidikan MIPA  
Program Studi : Pendidikan Biologi  
Angkatan Tahun : 2011  
Daerah Asal : Gresik  
Tempat, Tanggal Lahir : Gresik, 1 Juli 1993

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.  
NIP. 19600309 198702 2 002

Siti Murdiyah, S.Pd., M.Pd.  
NIP. 1979050 3200604 0 4001

**PENGESAHAN**

Skripsi Berjudul “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 4 September 2015

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.

NIP. 19600309 198702 2 002

Anggota I,

Siti Murdiah, S.Pd., M.Pd.

NIP. 1979050 3200604 0 4001

Anggota II,

Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.

NIP.19790415 200312 200 3

Dra. Pujiastuti, M.Si.

NIP. 19610222 198702 2 001

Mengesahkan  
Dekan FKIP Universitas Jember,

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.

NIP. 19540501 198303 1 005



**RINGKASAN**

**Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks**, Yuly Diyan Nur Fajriyah, 110210103043; 2015; 72 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

*Kombucha* merupakan minuman hasil fermentasi yang berasal dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. dengan medium seperti teh, kopi, dan rosella namun beberapa penelitian membuat inovasi baru untuk mengetahui mutu nata *kombucha* yang dibuat seperti sari nanas dan sari salak. Pemanfaatan buah belimbing wuluh bahan baku membuat *kombucha* adalah karena buah ini memiliki kandungan kimiawi kompleks daripada kandungan pada teh. Buah belimbing wuluh digunakan untuk meningkatkan nilai kegunaan dan nilai jual dari buah itu sendiri. Buah belimbing wuluh aman dikonsumsi dan dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa buah belimbing wuluh dapat digunakan untuk obat antihipertensi, untuk menurunkan kolesterol darah, gondongan (beguk), cacar air, wasir, demam, dan lain sebagainya. Penelitian ini menggunakan air fermentasi dari *kombucha* sari buluh (buah belimbing wuluh). Kandungan *kombucha* sari belimbing wuluh yang dominan adalah asam asetat dan senyawa flavonoid yang bekerja sebagai antibakteri, akan tetapi terdapat beberapa kandungan lainnya seperti asam glukonat, asam laktat, asam malat, saponin, terpenoid dan lainnya yang juga bisa dijadikan antibakteri. Air *kombucha* sari buluh tersebut kemudian diujikan terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. Pengamatan dalam penelitian ini adalah KHM dari air *kombucha* sari buluh dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* setelah diketahui waktu fermentasi efektifnya. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa air fermentasi teh *kombucha* dapat bersifat sebagai antibakteri pada *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Aeromonas hydrophyla*, *Pseudomonas aureginosa*, dan *Salmonella typhimurium*.

Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis adanya pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli*, dan menyusun buku non-teks berdasarkan hasil penelitian “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*”.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan metode sumuran, dengan menggunakan RAL dengan 3x pengulangan. Dalam penelitian ini dibuat *kombucha* sari buluh pada waktu fermentasi 14 hari dengan serial konsentrasi 25%, 27.5%, 30%, 32.5%, dan 35% untuk mengetahui pengaruh air *kombucha* sari buluh terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan menentukan konsentrasi hambat minimal dari air *kombucha* tersebut. Penelitian ini digunakan kontrol positif berupa kloramfenikol 1% dan kontrol negatif berupa akuades. Analisis data yang digunakan yaitu One-Way ANOVA, jika diketahui berpengaruh signifikan dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc* dengan BNT.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa air *kombucha* sari buluh (buah belimbing wuluh) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran pada medium NA. Air *kombucha* sari buluh mempunyai KHM terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% dengan rerata lebar zona hambat yaitu 0,24 cm.

Penelitian eksperimental dilanjutkan dengan penyusunan buku non-teks berupa karya ilmiah populer dengan model pengembangan 4D. Setelah dilakukan validasi dengan 4 validator yang bersal dari 2 validator Dosen Biologi, 1 validator dari Guru SMKN 5 Jember, dan 1 validator dari pengusaha nata di Jember, maka didapatkan hasil bahwa penelitian pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* tervalidasi layak dijadikan buku non-teks dengan judul “*Kombucha* sari buluh yang Menyehatkan

Badan (mengungkap khasiat *kombucha* sari *buluh* sebagai minuman herbal obat diare)” dengan rata-rata nilai validasi sebesar 90% dan rerata skor 14,3.



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi, Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada.

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA FKIP Universitas Jember;
3. Prof. Drs. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
4. Drs. Wachju Subchan, M.S., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberi masukan dan motivasi selama masa perkuliahan;
5. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing I, dan Siti Murdiyah S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Pmbimbing II, Prof. Dr. Joko Waluyo, M.Si., Dra. Pujiastuti, M.Si., dan Sulifah Aprilia H., S.Pd., M.Pd., selaku Dosen Pembahas dan Dosen Penguji Skripsi yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam peyelesaian penulisan skripsi ini;
6. Segenap Dosen FKIP Pendidikan Biologi, atas semua ilmu yang telah diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi;

7. Bapak Sardi sekeluarga di Perumahan Muktisari Tegal Besar Jember, yang telah membimbing dan memberikan starter *kombucha* secara cuma-cuma untuk penelitian ini;
8. Validator buku karya ilmiah populer; Mochammad Iqbal, S.Pd, M.Pd., Ika Lia Novenda, S.Pd., M.Pd., Sulastri, S.TP., M.Pd., Ir. Sardi, S.P., terimakasih karena telah meluangkan waktunya untuk memvalidasi buku karya ilmiah populer yang telah saya buat;
9. Pak Tamyis, Mbak Evi, dan Mas Engki, selaku teknisi laboratorium di Program Studi Pendidikan Biologi yang sering saya repoti;
10. Cha-cha Nandar dan adik-adik PELITA yang telah aku anggap adik-adikku sendiri (Dista, Hendra, Lianti, Aris), terimakasih atas hari-hari yang menyenangkan, kebersamaan, persahabatan, dan kenangannya;
11. Sahabat dunia akhiratku “Plaster Community” serta sobat seperjuangan “X-Friends” yang telah mengajarkanku arti sebuah keluarga di daerah perantauan;
12. Teman-temanku angkatan 2011 FKIP Biologi UNEJ yang telah memberikan dukungan dan motivasi;
13. Teman-teman UKM PELITA UNEJ yang telah memberi rasa kekeluargaan dan pengalaman berharga dalam berorganisasi;
14. Mbak kos Cheyyi, Adila, Melly, Binti, Amalah, Okta, Devina, Ivon, Sepupu tersayang Mbak Elok, Mas Afif, Adnine, Desain sampul bukuku Sadli dan Raka, teman-teman “sepenelitian bakteri”, Ilup, teman-teman kos Bu Ghazi.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, September 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>4</b>
<b>1.3 Batasan Masalah .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>5</b>
<b>1.5 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>6</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1 <i>Kombucha</i>.....</b>	<b>7</b>
2.1.1 Karakteristik Mikroorganisme Penyusun <i>Kombucha</i> .....	8
2.1.2 Kandungan <i>Kombucha</i> dan Manfaatnya.....	9
2.1.3 Proses Fermentasi <i>Kombucha</i> .....	10
2.1.4 Faktor-faktor Pembatas Fermentasi .....	11

2.1.5 Penelitian Air Fermentasi <i>Kombucha</i> sebagai Antibakteri...	12
<b>2.2 Belimbing Wuluh .....</b>	<b>13</b>
2.2.2 Morfologi Tanaman Belimbing Wuluh .....	13
2.2.3 Kandungan Aktif Belimbing Wuluh.....	14
2.2.4 Manfaat Buah Belimbing Wuluh.....	16
<b>2.3 Bakteri <i>Escherichia coli</i>.....</b>	<b>17</b>
2.3.1 Klasifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	17
2.3.2 Karakteristik Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	17
<b>2.4 Pertumbuhan Bakteri.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5 Zat Antimikroba .....</b>	<b>19</b>
<b>2.6 Buku Non-teks.....</b>	<b>21</b>
2.6.1 Definisi buku non-teks.....	21
2.6.2 Model Penyusunan Buku Non-Teks 4-D.....	22
<b>2.7 Hipotesis.....</b>	<b>24</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 Identifikasi Variabel Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4 Definisi Operasional.....</b>	<b>26</b>
<b>3.5 Prosedur Penelitian Eksperimental.....</b>	<b>27</b>
3.5.1 Tahap Persiapan .....	27
3.5.2 Tahap Uji Pnedahuluan.....	33
3.5.3 Tahap Uji Akhir .....	35
<b>3.6 Analisis Data Penelitian.....</b>	<b>36</b>
<b>3.7 Penyusunan Buku Non-teks.....</b>	<b>36</b>
<b>3.8 Skema Alur Penelitian.....</b>	<b>39</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>40</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian Eksperimental .....</b>	<b>40</b>

4.1.1 Hasil Pengamatan Karakterisasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> ...	40
4.1.2 Hasil Identifikasi Starter <i>Kombucha</i> Sari Buluh.....	41
4.1.3 Hasil Pengamatan Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> ...	44
4.1.4 Morfologi Buah Belimbing Wuluh.....	45
4.1.5 Hasil Uji Pendahuluan .....	45
4.1.6 Hasil Uji Akhir.....	47
<b>4.2 Hasil Uji Validasi Buku Non-teks.....</b>	<b>50</b>
<b>4.3 Pembahasan.....</b>	<b>51</b>
4.3.1 Hasil Pengamatan Morfologi Buah Belimbing Wuluh, Identifikasi Starter <i>Kombucha</i> , Karakterisasi Bakteri <i>E.</i> <i>Coli</i> dan Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>E. coli</i> .....	51
4.3.2 Pengaruh Air Fermentasi <i>Kombucha</i> Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia</i> <i>coli</i> .....	57
4.3.3 KHM Air Fermentasi <i>Kombucha</i> Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia</i> <i>coli</i> .....	63
4.3.4 Penyusunan Buku Non-teks .....	62
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>66</b>
5.1 Kesimpulan.....	66
5.2 Saran .....	66
<b>DAFTAR BACAAN .....</b>	<b>68</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
3.1 Takaran konsentrasi air <i>kombucha</i> sari buah buluh untuk uji pendahuluan.....	35
3.2 Kriteria Validasi Buku Non-teks .....	40
4.1 Hasil pengamatan bakteri <i>E. coli</i> dengan pewarnaan gram dan uji biokimia .....	42
4.2 Hasil Pengamatan lapisan nata <i>kombucha</i> .....	44
4.3 Hasil Pengamatan mikroorganismen penyusun starter <i>kombucha</i> .....	45
4.4 Hasil uji pendahuluan lebar zona hambat tiap serial konsentrasi air <i>kombucha</i> sari buluh terhadap pertumbuhan bakteri <i>E. coli</i> .....	48
4.5 Lebar Zona hambat serial konsentrasi air <i>kombucha</i> sari buluh terhadap pertumbuhan <i>E. coli</i> pada uji akhir .....	49
4.6 Hasil uji anova lebar zona hambat.....	51
4.7 Hasil Uji Validasi Buku Non-teks.....	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 A. Pohon belimbing wuluh, B. Daun, C. Bunga, D. Buah.....	15
2.2 Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	19
2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	20
4.1 Hasil pengamatan bakteri <i>Escherichia coli</i> : setelah dilakukan pewarnaan gram tampak berwarna merah dan berbentuk basil (perbesaran 100x10) (koleksi pribadi).....	43
4.2 Starter <i>kombucha</i> berupa air fermentasi dan lapisan nata <i>kombucha</i> (koleksi pribadi).....	44
4.3 Hasil Pengamatan Sel Penyusun <i>Kombucha</i> : a) bakteri <i>Acetobacter</i> sp. berwarna merah setelah pewarnaan gram dan berbentuk basil (perbesaran 10x100); b) khamir <i>Saccharomyces</i> sp. tanpa dilakukan pewarnaan gram berbentuk bulat (perbesaran 10x100).....	45
4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	46
4.5 Buah Belimbing Wuluh yang digunakan dalam pembuatan <i>kombucha</i> sari <i>buluh</i> berwarna hijau segar dan bentuk lonjong (koleksi pribadi).....	47
4.6 Hasil Uji Pendahuluan pengaruh serial konsentrasi air <i>kombucha</i> sari <i>buluh</i> terhadap pertumbuhan bakteri <i>E. Coli</i> .....	48
4.7 Lebar zona hambat yang ditunjukkan dengan zona bening di sekitar sumuran. a) cawan 1; b) cawan 2; c) cawan 3 (sumber: koleksi pribadi).....	50

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Matriks Penelitian .....	73
B. Analisis Data Penelitian .....	75
B.1 Uji Anova Pengaruh Serial Konsentrasi Air <i>Kombucha Buluh</i> terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	75
B.2 Uji BNT Pengaruh Serial Konsentrasi Air <i>Kombucha</i> sari buluh terhadap pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> .....	76
C. Skor Keseluruhan Validasi Buku Non-teks.....	79
D. Foto Penelitian .....	81
D.1 Foto alat dan bahan penelitian.....	81
D.2 Foto saat penelitian.....	81
D.3 Foto Hasil Penelitian .....	83
E. Instrumen Validasi Buku Non-teks .....	85
F. Design Buku Non-teks.....	97
F.1 Design cover depan dan belakang buku non-teks setelah divalidasi .....	97
F.2 Biografi Penulis .....	98
G. Sampel Hasil Validasi Buku Non-teks.....	99
G.1 Validasi Buku Non-teks dari Dosen Biologi FKIP UNEJ.....	99
G.2 Validasi Buku Non-teks dari Masyarakat Umum .....	103
H. Lembar Konsultasi Bimbingan Skripsi .....	107

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Kombucha* merupakan minuman hasil fermentasi dari starter *kombucha* berupa nata yang berasal dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. dengan medium yang digunakan untuk membuat minuman sehari-hari seperti teh, kopi, dan rosella (Darwindra, 2008). Air fermentasi *kombucha* dapat dimanfaatkan untuk kesehatan seperti penurunan glukosa dalam darah dan menurunkan asam urat (Setiawan, 2012). *Kombucha* biasanya ditumbuhkan dalam medium teh dan kopi. Terdapat beberapa penelitian telah dilakukan berbagai inovasi untuk media *kombucha* yang dapat dikonsumsi oleh manusia dan hanya untuk mengetahui mutu nata *kombucha* yang dibuat seperti sari nanas (Lisa, 2009) dan sari salak (Permadiningtyas, 2011). *Kombucha* adalah fermentasi minuman yang berpengaruh sehat bagi tubuh. Alasan pemanfaatan buah belimbing wuluh untuk bahan baku membuat *kombucha* adalah karena buah belimbing wuluh memiliki kandungan kimiawi kompleks daripada kandungan pada teh, sehingga dihasilkan minuman sehat dari *kombucha* yang lebih berguna (Sugiarti, 2009).

Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman buah asli Indonesia dan daratan Malaya yang banyak ditemui sebagai tanaman pekarangan yang mudah ditanam dan tidak memerlukan perawatan khusus sehingga kemampuannya dalam menghasilkan buah sepanjang tahun terbuang sia-sia (Tohir, 1981). Buah belimbing wuluh mempunyai rasa asam yang tinggi dan kadar air buah yang tinggi sehingga kurang disukai untuk dimakan langsung sebagai buah seperti halnya belimbing manis (Shanti, 2008). Masyarakat hanya memanfaatkan buah belimbing wuluh secara langsung untuk bumbu dalam masakan, bahan pengawet makanan, dan obat batuk tradisional (Rahayu, 2013).

Rahayu (2013) menyatakan bahwa dari hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak kental metanol buah belimbing wuluh diketahui positif mengandung

senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri dengan kandungan utamanya adalah flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol, dimana senyawa fenol dapat bersifat antifungi dan antibakteri. Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai kandungan antioksidan yang tinggi dibandingkan buah-buahan lain dengan kandungan fenol sebanyak  $1261,63 \pm 31,41$  mg GAE/100 g dan nilai aktivitas antioksidan sebesar  $91,89\% \pm 0,01\%$ . Marcus *et al* (1991) menyatakan bahwa fenol juga dapat berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Senyawa flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Waji, 2009). Senyawa triterpen saponin dapat bekerja sebagai antimikroba (Assani, 1994) dan senyawa terpenoid yang berguna untuk mempertahankan dari serangan mikroba (Robinson, 1995).

Ekstraksi buah belimbing wuluh menggunakan etanol dan metanol dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri penyebab infeksi seperti bakteri *Shigella dysenteriae* (Dewi, dkk., 2013). Beberapa senyawa yang terkandung dalam sari buah belimbing wuluh tersebut bila dikombinasikan dengan asam asetat yang terdapat pada *kombucha* diharapkan saling bersinergi dan bersifat sebagai antibakteri. Penelitian tentang air *kombucha* dengan berbagai medium sebagai antibakteri telah banyak dilakukan. Air teh *kombucha* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophyla*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aureginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermis*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori*, dan *Listeria monocytogenes*. Air *kombucha* teh juga dapat bersifat antagonis terhadap bakteri *Shigella*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* (Adiawati, 2003). *Kombucha* probiotik dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* (Sutarmi, 2005). Belimbing wuluh yang memiliki kandungan kimia kompleks daripada teh dapat menjadi bahan baku *kombucha* yang menghasilkan minuman sehat sebagai antibakteri (Sugiarti, 2009).

Buah belimbing wuluh bermanfaat bagi masyarakat terutama dalam pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri seperti diare karena mengandung antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid yang dapat menghambat berkembangnya bakteri dalam tubuh (Suriana & Shobarani, 2007 ). Bakteri *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, saluran kemih, saluran empedu, paru-paru peritoneum dan selaput otak yang menyebabkan *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare akut (Winarno, 2008). Bakteri *E. coli* termasuk bakteri patogen yang tergolong gram negatif, ukuran  $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ , tidak berflagel, bergerak aktif, tidak berspora, berbentuk batang pendek, dan bersifat bakteri fakultatif anaerob (Anggraeni, 2012). *E. coli* dapat dengan mudah dibiakkan serta memiliki waktu penggandaan sel yang singkat, yaitu 20 menit pada medium kaya nutrisi (Ilmi, 2007). Berdasarkan hal tersebut, peneliti memilih *E. coli* sebagai bakteri uji pada penelitian uji daya antibakteri air *kombucha* karena bakteri yang dapat merugikan setidaknya harus dihambat ataupun dikendalikan pertumbuhannya. Daya hambat suatu zat terhadap bakteri ditentukan oleh diameter zona bening yang terbentuk. Semakin besar diameternya, maka semakin terhambat pertumbuhannya (Bachtiar, Wahju & Nanik, 2012).

Masyarakat pada umumnya menanggulangi diare dengan mengonsumsi obat sintetik. Penggunaan obat sintetik dapat menimbulkan efek samping yang lebih banyak dibandingkan obat tradisional. Efek samping penggunaan obat sintetik antara lain: reaksi alergi, reaksi toksik, dan perubahan alergi metabolik (Ganiswarna, 2001) sehingga masyarakat perlu suatu antibakteri herbal baru tanpa adanya efek samping. Salah satu antibakteri dapat digunakan adalah *kombucha* yang memanfaatkan pengolahan buah belimbing wuluh sebagai mediumnya untuk menanggulangi diare dari bakteri *E. coli*. Antibakteri tersebut perlu untuk diketahui oleh masyarakat luas agar mereka bisa menggunakannya sebagai pengetahuan baru yang bermanfaat untuk kehidupan sehari-hari karena penyakit diare merupakan penyakit yang bisa menyerang kapanpun dan dimanapun. Pernyataan tersebut membuat peneliti perlu

untuk membuat buku non-teks yang bahasanya bisa mudah dipahami dan selanjutnya dapat mudah diakses oleh masyarakat luas baik digunakan untuk menjadi buku bacaan. Buku non-teks yang dibuat berupa karya ilmiah populer tentang minuman kesehatan yang baik bagi tubuh. Produk berupa buku non-teks dari hasil penelitian akan disusun dengan menggunakan model pengembangan yang terdiri dari 4 tahap yang dikenal dengan sebutan *Four-D model* (4D), yaitu tahap pendefinisian (*Define*), perancangan (*Design*), pengembangan (*Develop*), dan penyebaran (*Disseminate*). Penyusunan buku non-teks ini dimaksudkan sebagai upaya memperkaya wawasan keilmuan terutama tentang iptek yang tidak diperoleh pada pembelajaran di kelas.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian dengan judul “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks”.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Adakah pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*?
- b. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*?
- c. Bagaimanakah hasil penelitian “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*” digunakan untuk penyusunan buku non-teks?

### 1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pembahasan dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah yang digunakan dalam penelitian ini maka diberi batasan masalah sebagai berikut:

- a. Starter *kombucha* yang digunakan dalam penelitian ini berupa air fermentasi dan nata yang berasal dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp..
- b. Penelitian ini menggunakan sari buah belimbing wuluh yang berasal dari sari perasan buah belimbing wuluh dan gula kelapa yang telah ditambah starter *kombucha*.
- c. Buah belimbing wuluh diperoleh dari Jalan Kalimantan 4 Jember yang masih berwarna hijau dengan kandungan banyak air.
- d. Starter *kombucha* diperoleh dari Perumahan Muktisari Tegal Besar Jember.
- e. Isolat murni bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari laboratorium Politehnik Negeri Jember.
- f. Daya hambat ditunjukkan dengan adanya diameter zona hambat (zona bening) pada medium di sekitar sumuran dan selanjutnya diukur dengan jangka sorong/penggaris.

### 1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, adapun tujuan penelitian ini sebagai berikut:

- a. Menganalisis adanya pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
- b. Menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli*.



- c. Menyusun buku non-teks berdasarkan hasil penelitian “Pengaruh Konsentrasi *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*”.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

- a. Bagi ilmu pengetahuan, menambah wawasan keilmuan dan pengetahuan tentang khasiat air *kombucha* sari buah belimbing wuluh sebagai antibakteri,
- b. Bagi peneliti lain, dapat dipakai sebagai bahan perbandingan dan acuan untuk penelitian sejenis,
- c. Bagi masyarakat, menambah pengetahuan tentang pemanfaatan buah belimbing wuluh yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Kombucha*

*Kombucha* merupakan minuman hasil fermentasi dari starter *kombucha* berupa nata yang berasal dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. yang menggunakan medium untuk membuat minuman sehari-hari seperti teh, kopi, dan rosella. Air *kombucha* mempunyai rasa manis keasam-asaman yang menyegarkan dan mengandung sedikit alkohol (Darwindra, 2008). *Kombucha* melakukan aktivitas metabolisme primer dan sekunder pada waktu fermentasi.

Metabolisme primer dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. berupa asam asetat yang digunakan untuk kelangsungan siklus hidupnya (Darwindra, 2008). Metabolisme sekunder yang dihasilkan berupa pelikel yang terbuat dari selulosa berupa nata bermembran yang liat dan berbentuk lapisan (menyerupai bentuk tempatnya), berwarna kecoklatan yang bertekstur kenyal seperti karet, hidup dalam lingkungan nutrisi yang sesuai serta tumbuh terus menerus membentuk susunan lempengan berlapis. Satu lempengan nata *kombucha* yang terbentuk dapat digunakan sebagai starter untuk membuat *kombucha* lain. Umur nata *kombucha* yang semakin tua akan berwarna lebih coklat dan berada di lapisan paling dasar, sedangkan nata *kombucha* yang muda akan berwarna putih dan terletak pada piringan yang berada di lapisan atas. *Kombucha* yang tumbuh dengan subur akan membentuk beberapa lapis piringan nata *kombucha* (Frank, 1996). Bakteri *Acetobacter* sp. dapat mengoksidasi glukosa dan merubahnya menjadi rantai polimer panjang (polisakarida dan selulosa) berupa serat putih yang lebih dikenal sebagai biofilm selulosa atau nata (Darwindra, 2008).

Air *kombucha* dapat hidup lama namun nata *kombucha* yang sudah lama dan berwarna coklat tua sebaiknya tidak digunakan lagi untuk membuat minuman, tetapi dapat dimanfaatkan sebagai pupuk dengan cara memotongnya dengan irisan kecil-kecil kemudian dimasukkan ke dalam tanah. Starter *kombucha* berupa nata yang tidak

bisa digunakan untuk membuat minuman fermentasi adalah *kombucha* yang struktur natanya rapuh dan mudah disobek serta terdapat jamur (*mold*) pada bagian atasnya. *Kombucha* dengan karakteristik yang demikian sebaiknya dihindari untuk dijadikan sebagai starter dalam membuat minuman *kombucha* karena dikhawatirkan efek samping yang berbahaya bagi tubuh (Arsenius, 2010).

### 2.1.1 Karakteristik Mikroorganisme Penyusun *Kombucha*

*Kombucha* terbentuk karena adanya simbiosis antara bakteri dari genus *Acetobacter* dan khamir dari genus *Saccharomyces*. Bakteri yang sering dijumpai pada *kombucha* antara lain *A. xylinum*, *A. aceti*, *A. ketogenum*, dan *A. pasterianum*. Adapun khamir yang sering ada dalam *kombucha* antara lain, *S. cerevisiae*, *S. ludwigii*, dan *S. pombe* (Naland, 2004).

Bakteri *Acetobacter* sp. mempunyai karakteristik antara lain bentuknya bulat lonjong hingga batang pendek, tergolong dalam bakteri gram negatif, bersifat aerob obligat, tumbuh pada pH 3,5 – 4,3 dan pada suhu 25 – 30°C. Bakteri ini dapat mengoksidasi etanol dan menghasilkan asam asetat. Asam asetat dimanfaatkan oleh *Acetobacter* sp. sebagai substrat untuk mengoptimalkan pertumbuhannya serta asam asetat yang terdapat dalam medium fermentasi dapat diubah menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O ketika gula dalam medium telah habis dimetabolisir (Naland, 2004). *Acetobacter* sp. dapat mengoksidasi glukosa menjadi rantai atau polimer panjang yang disebut dengan polisakarida atau selulosa berupa serat-serat putih yang terbentuk secara bertahap dari lapisan tipis hingga akhirnya membentuk lapisan tebal yang berlembar-lembar. Nata yang terbentuk merupakan hasil dari metabolisme sekunder yang prosesnya dikendalikan oleh plasmid *Acetobacter* sp.. Metabolisme primer yang dihasilkan berupa asam asetat, air, dan energi yang digunakan kembali dalam siklus hidupnya (Razae et al., 2005).

Khamir *Saccharomyces* sp. merupakan khamir yang mempunyai sel tunggal, tidak berklorofil, berbentuk bulat, berwarna putih, bertunas, dan tumbuh baik pada suhu 30°C serta pH 4,8. *Saccharomyces* sp. merupakan genus khamir/ragi/yeast yang

memiliki kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> dan akan menghidrolisis sukrosa membentuk glukosa dan fruktosa untuk produksi ethanol (Razae *et al.*, 2005).

### 2.1.2 Kandungan *Kombucha* dan Manfaatnya

*Kombucha* adalah agen penghasil senyawa biokimia karena mikroorganisme dalam *kombucha* akan mengubah kandungan gula di dalamnya menjadi berbagai jenis asam, vitamin, dan alkohol yang berkhasiat. *Kombucha* kaya kandungan zat-zat yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Berbagai macam vitamin, asam organik, dan senyawa yang berfungsi sebagai antibiotik (Naland, 2004).

Kandungan dan fungsi dari *kombucha* antara lain : 1) vitamin B; 2) vitamin C yang berfungsi untuk meningkatkan daya tahan tubuh; 3) asam laktat yang berperan dalam sistem pencernaan manusia, serta dapat menjadi indikator penyakit kanker; 4) asam asetat yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen; 5) asam malat untuk proses detoksifikasi tubuh; 6) asam oksalat untuk memproduksi energi dalam tubuh; 7) asam glukonat untuk kadar glukosa dalam darah; 8) asam nukleat untuk meningkat regenerasi sel yang baik; 9) asam folat untuk membantu penyembuhan luka; 10) asam amino untuk pembentukan protein, juga sebagai antibody untuk melawan bakteri dan virus; 11) asam glukoronat dengan asam asetat dapat berfungsi sebagai penangkal racun; 12) asam karbonat dengan asam laktat dapat mencegah kanker (Naland, 2008). Kandungan lainnya yaitu enzim yang dapat berfungsi sebagai biokatalisator atau mempercepat laju reaksi biokimia dalam tubuh (Arsenius, 2012).

Simbiosis antara bakteri genus *Acetobacter* dan khamir genus *Saccharomyces* serta sumber nutrisi saat fermentasi *kombucha* dapat menghasilkan dua hasil fermentasi yang berupa nata sebagai hasil fermentasi sekunder, dan air fermentasi sebagai hasil fermentasi primer. *Kombucha* umumnya dimanfaatkan sebagai minuman obat yaitu berupa air fermentasi yang mempunyai berbagai kandungan yang disinyalir dapat bermanfaat untuk kesehatan, seperti asam asetat, asam folat, asam

malat, asam glukoronat, asam glukonat, dan berbagai vitamin. Nata hasil fermentasi *kombucha* tersebut tidak dikonsumsi secara langsung, melainkan hanya digunakan sebagai starter/induk, dan bisa juga digunakan untuk menyamarkan luka gores, dan jerawat dengan cara menempelkan lapisan nata *kombucha* tersebut pada kulit yang luka secara rutin (Naland, 2004).

### 2.1.3 Proses Fermentasi *Kombucha*

Fermentasi adalah proses produksi energi sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Fermentasi dapat juga didefinisikan sebagai perubahan gradual oleh enzim beberapa bakteri, khamir, dan kapang. Fermentasi merupakan salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi terdapat definisi lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal (*Buckle et al, 2000*).

Pembentukan *kombucha* pertama kali dimulai dari proses fermentasi dengan sedikit oksigen dari lingkungan. Organisme menghasilkan enzim yang menguraikan senyawa glukosa menjadi alkohol (etanol) dan gas karbondioksida dalam proses fermentasi. Hasil tersebut bereaksi dengan air membentuk senyawa asam karbonat dan ketika kondisi yang berkecukupan oksigen maka reaksi yang terjadi bukan fermentasi. Proses ini bukan menghasilkan etanol, tetapi karbondioksida dan air. Ragi akan memulai aktivitasnya dengan memfermentasi sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dengan hasil metabolit samping alkohol dan karbon dioksida. Proses fermentasi akan berlangsung selama 7-12 hari tergantung pada berbagai faktor termasuk diantaranya adalah suhu lingkungan, kelembaban udara, dan lain-lain. Rasa teh yang difermentasikan dengan waktu yang lama menghasilkan rasa asam dan rasa manis akan semakin berkurang (Naland, 2008).

Simbiosis bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. selama proses fermentasi dalam larutan teh dan gula akan memproduksi berbagai enzim, asam asetat, asam karbonat, asam folat, asam glukonat, asam glukoronat, asam laktat, berbagai asam amino, fruktosa, karbon dioksida, dan sejumlah kecil alkohol (0.5-1

%), vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin, niasina mide), vitamin B6 (pyridoxine), vitamin B12 (kobalamin, sianokobalamin), vitamin C (dari asam laktat). Komposisi inokulum dalam kultur *kombucha* menjadi sangat krusial karena khamir dan bakteri asam asetat yang tumbuh bersimbiosis mempunyai aktivitas sinergis dan saling melengkapi dalam fermentasi (Naland, 2004).

Fermentasi yang dilakukan selama 4-6 hari akan menghasilkan teh *kombucha* dengan cita rasa yang paling enak. Hal ini disebabkan gula yang ada belum terurai seluruhnya sehingga masih ada rasa manis dalam teh *kombucha*. Fermentasi yang dilakukan dalam waktu yang lebih lama akan menghasilkan teh dengan rasa asam yang kuat dan bahkan akan semakin kuat, sementara rasa manis berkurang karena gula yang ada terfermentasi. Fermentasi banyak merombak senyawa-senyawa kimia pada bahan pangan khususnya pada teh *kombucha*. Hal tersebut dapat menyebabkan kadar gula dalam minuman fermentasi akan mengalami penurunan selama fermentasi berlangsung (Naland, 2004).

*Kombucha* yang dihasilkan maksimal dibiarkan dalam botol selama beberapa hari (sekitar 7-8 hari). Bakteri fermentasi akan berhenti bekerja setelah aliran udara tidak berjalan (botol tertutup rapat), tetapi ragi masih terus bekerja akan tetapi jika botol isi *kombucha* terisi dengan baik maka gas yang dihasilkan oleh ragi tidak bisa keluar sehingga minuman tampak menghasilkan busa halus (Naland, 2004).

#### 2.1.4 Faktor-faktor Pembatas Fermentasi

Faktor yang membatasi proses fermentasi antara lain: pH, suhu, kadar gula (nutrien), lamanya fermentasi, sifat medium, kondisi mikroba, dan pemindahan sisa air fermentasi. Berbagai studi memberikan fakta bahwa fermentasi akan meningkat seiring dengan penurunan pH. pH sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme karena pH dapat bersifat inhibitor atau menghambat kerja enzim dalam tubuh mikroorganisme (Walker, 1992).

Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme meliputi unsur C, N, P, dan K. Nutrisi dalam medium harus sesuai dan pertumbuhan mikroorganisme akan

berlangsung dengan baik, dan bila nutrisi sudah habis maka pertumbuhan *kombucha* akan terhenti. Nutrisi yang banyak juga akan memperlambat pertumbuhan mikroorganisme. Sumber nutrisi yang paling baik untuk pertumbuhan *kombucha* adalah gula kelapa (Karyantina, 2008).

Lamanya proses fermentasi juga mempengaruhi pertumbuhan *kombucha* sehingga semakin lama proses fermentasi tentunya akan berakibat pada semakin habisnya sumber karbon akibatnya tingkat keasaman yang dihasilkan saat fermentasi akan lebih tinggi dan berakibat semakin lambatnya dan berhentinya proses fermentasi. Media yang digunakan harus disesuaikan dengan kebutuhan mikroba dalam proporsi yang sebanding sehingga mikroba dapat tumbuh dengan optimal. Kondisi mikroba berkaitan dengan adaptasi mikroba terhadap lingkungan barunya sehingga jika mikroba siap untuk replikasi dengan koloninya maka akan semakin cepat terbentuk biofilm selulosa yang terdapat pada permukaan medium berupa nata. Terbentuknya lapisan nata yang lama kelamaan menebal tersebut akan mengindikasikan bahwa mikroba tersebut tumbuh pada medium yang telah dibuat (Suprati, 2003).

#### 2.1.5 Penelitian Air *Kombucha* sebagai Antibakteri

Penelitian tentang air *kombucha* sebagai antibakteri telah banyak dilakukan. Air teh *kombucha* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophyla*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Helicobacter pylori*, dan *Listeria monocytogenes*. Air *kombucha* teh juga dapat bersifat antagonis terhadap bakteri *Shigella*, *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* (Adiawati, 2003).

## 2.2 Belimbing Wuluh

### 2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, Linn)

Nama daerah belimbing wuluh adalah: limeng (Aceh); selmengo (Gayo); asom belimbing, balimbingan (Batak); malimbi (Nias); belimbing wuluh (Jawa); bhalingbing bulu (Madura); blingbing buloh (Bali); calene (Bugis); dan malibi (Halmahera) (Muhlisah, 2000).

Klasifikasi tumbuhan Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menurut Tjitrosoepomo (2000) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Divission	: Spermatophyta
Sub divission	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Ordo	: Geraniales
Family	: Oxalidaceae
Genus	: Averrhoa
Species	: <i>Averrhoa bilimbi</i> , Linn

### 2.2.2 Morfologi Tanaman Belimbing Wuluh

Belimbing wuluh merupakan tumbuhan berjenis pohon, hidup pada ketinggian 500-750 meter di atas permukaan laut, dan tempat tumbuh yang disukai ialah yang lebih banyak terkena matahari langsung. Pohon tersebut setelah besar dapat mencapai ketinggian 5-10 meter, mempunyai batang yang tidak begitu besar dengan permukaan kasar dan berbenjol- benjol, dahan jarang, kasar dan mudah patah. Daun majemuk menyirip dengan anak daun berbentuk bulat telur atau oval, daun berwarna coklat muda, sedangkan yang tua berwarna hijau kekuningan. Panjang daun 30-60 cm dan berkelompok diujung cabang. Pada setiap daun terdapat 21-45 anak daun yang berselang-seling atau setengah berpasangan (Muhlisah, 2000; Steenis, 1997) seperti yang terlihat pada Gambar 2.1, halaman 14.

Bunga tanaman belimbing wuluh kecil-kecil dan berbentuk seperti bintang, warnanya ungu tua muncul langsung dari batang dengan tangkai bunga berambut. Mahkota bunga berjumlah lima. Buah belimbing wuluh mempunyai penampang bulat



panjang (lonjong) bersegi tumpul, termasuk ke dalam buah buni panjangnya 4-6,5 cm dan warna buah ketika muda hijau dengan sisa kelopak bunga menempel diujungnya dan jika buah masak berwarna kuning atau kuning pucat. Buah belimbing wuluh tumbuh bergerombol bergantung pada batang atau pangkal cabang yang besar. Kulit buah berwarna mengkilap dan tipis (Steenis, 1997).



Gambar 2.1 A. Pohon Belimbing Wuluh, B. Daun, C. Bunga, D. Buah  
(Sumber: Steenis, 1997)

### 2.2.3 Kandungan Aktif Belimbing Wuluh

Senyawa organik pada tumbuhan dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan senyawa utama yang diperlukan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan meliputi karbohidrat, lemak dan protein. Metabolit sekunder didefinisikan sebagai senyawa

non nutrisi yang dihasilkan oleh tumbuhan dan dapat melindungi tanaman dari serangan serangga, bakteri, cendawan, jamur dan patogen lain (Salisbury & Ross, 1995).

Buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki metabolisme sekunder yang mengandung banyak vitamin C alami yang berguna sebagai penambah daya tahan tubuh dan perlindungan terhadap penyakit. Belimbing wuluh mempunyai kandungan unsur kimia yang disebut asam oksalat dan kalium. Rahayu (2013) menyatakan bahwa dari hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak kental metanol buah belimbing wuluh diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri dengan kandungan utamanya adalah flavonoid. Herlih (1993) menyatakan bahwa dari hasil pemeriksaan kandungan kimia buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) mengandung golongan senyawa oksalat, minyak menguap, fenol, flavonoid, dan terpenoid. Selain itu buah belimbing wuluh juga mengandung komposisi vitamin sebanyak 100 gram yang terdiri dari Riboflavin 0,026 mg, vitamin B1 0,010 mg, niasin 0,302 mg, asam askorbat 15,6 mg, karoten 0,035 mg, dan vitamin A 0,036 mg. Untuk komposisi mineral yang terkandung dalam buah tersebut sebanyak 100 gram juga yang terdiri dari fosfor 11,1 mg, kalsium 3,4 mg, dan besi 1 mg (Candra, 2008).

Senyawa flavonoid dalam buah belimbing wuluh bersifat sebagai antifungi dan antibakteri karena adanya gugus O-H, C=O, C=C, CH, C-OH, cincin aromatik tersubsitusi dan C-O dari alkohol sekunder. Senyawa flavonoid dapat berperan langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi mikroorganisme seperti bakteri dan virus (Waji, 2009). Flavonoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang bersifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein

dalam sel. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel yang merusak sel bakteri (Rahayu, 2013).

Buah belimbing wuluh juga mengandung senyawa terpenoid sebagai antifungus dan antimikroba. Kelompok terpenoid dibagi menjadi 3 yaitu monoterpenoid, seskuiterpenoid dan triterpenoid (Robinson, 1995). Monoterpenoid merupakan komponen utama yang banyak dalam minyak atsiri dan mempunyai makna ekonomi yang besar dan berupa cairan tanpa warna, tidak larut dalam air, dapat disuling uap dan berbau harum. Terpenoid memiliki fungsi sebagai insektisida serta berdaya racun terhadap hewan tingkat tinggi (Robinson, 1995). Seskuiterpenoid memiliki peranan penting dalam pertahanan terhadap serangan mikroba. Triterpenoid merupakan senyawa aktif yang dapat bekerja sebagai antifungus, insektisida, dan beberapa senyawa menunjukkan sifat antibakteri dan antivirus (Robinson, 1995).

#### 2.2.4 Manfaat Buah Belimbing Wuluh

Buah belimbing wuluh merupakan salah satu bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai obat karena memiliki beragam khasiat. Salah satu khasiat yang dimiliki belimbing wuluh adalah sebagai obat antihipertensi, untuk menurunkan kolesterol darah, gondongan (beguk), cacar air, wasir, demam, mencegah kanker, memperlancar pencernaan, mencegah timbulnya degenerasi melemak hati serta dapat mencegah timbulnya lesi arterosklerosis pada arteri koronaria. Khasiat lain dari buah belimbing wuluh ini adalah sebagai obat batuk, gusi berdarah, sariwan, jerawat, panu, bisul (Gunawan dan Mulyani, 2006). Buah belimbing wuluh telah dimanfaatkan dan dikonsumsi oleh banyak orang untuk obat tradisional maupun untuk bumbu masakan sedangkan dalam farmakologi Cina, belimbing wuluh dikenal mempunyai banyak khasiat, diantaranya dapat menghilangkan rasa sakit, memperbanyak pengeluaran empedu, antiradang, dan peluruh kencing. Buah belimbing wuluh bermanfaat sebagai anti radang karena mengandung flavon. Kandungan kalium dalam buah ini dapat melancarkan keluarnya air seni sehingga mampu menurunkan tekanan darah (Hariana, 2004).

Belimbing wuluh ternyata sangat terkenal di kalangan masyarakat luas dan bahkan melebihi belimbing manis. Perasan air buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sangat baik untuk asupan kekurangan vitamin C. Banyak penelitian menyebutkan bahwa tanaman ini memiliki potensi tinggi dalam mengobati penyakit tertentu ataupun sebagai antibakteri. Penggunaan bahan antimikroba kimia di lingkungan masyarakat dalam produk pangan lebih populer karena hasilnya sebagai pengawet lebih efektif dan biayanya relatif murah.

## 2.3 Bakteri *Escherichia coli*

### 2.3.1 Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Monera
Phylum	: Bacteria
Divission	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Eschericia
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Volk& Wheeler, 1988).

### 2.3.2 Karakteristik Bakteri *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri anggota famili Enterobacteriaceae yang sering menimbulkan penyakit diare. Bakteri ini ditemukan oleh Theodor Escherich pada tahun 1885. Secara garis besar klasifikasi bakteri *Escherichia coli* berasal dari Filum Proteobacteria, Kelas Gamma Protista eobacteria, Ordo Enterobacteriales, Familia Enterobacteriaceae, Genus Escherichia, Spesies *Escherichia coli*. Morfologi *Escherichia coli* yaitu berbentuk batang pendek (seperti pada Gambar 2.2), gemuk, berukuran  $2,4 \mu \times 0,4$  sampai  $0,7 \mu$ , bersifat gram-negatif, tidak bersimpai, bergerak aktif dan tidak berspora seperti yang terlihat pada gambar 2.2. *E. coli* dapat bertahan hingga suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit atau pada  $55^{\circ}\text{C}$  selama

60 menit. Bakteri *Escherichia coli* merupakan organisme penghuni utama usus besar, hidupnya komensal dalam kolon manusia dan diduga berperan dalam pembentukan vitamin K yang berperan dalam proses pembekuan darah (Anggraeni, 2012).



Gambar 2.2 Morfologi *Escherichia coli* (Sumber: Anggraeni, 2012)

#### 2.4 Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan adalah pertambahan substansi hidup yang tidak reversible yang ditandai dengan pertambahan ukuran dan pembelahan sel. Organisme bersel satu jumlah selnya akan bertambah sedangkan organisme bersel banyak ditandai dengan bertambahnya ukuran (Schlegel, 1994). Pertumbuhan bakteri dengan mudah dapat dinyatakan dalam kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan merupakan gambaran dari fase pertumbuhan secara bertahap sejak awal hingga berhenti mengadakan aktivitas seperti terlihat pada Gambar 2.3, halaman 19. 4 fase pertumbuhan bakteri menurut Pratiwi (2008) yaitu:

1. Fase *lag*

Pada saat dipindahkan ke media yang baru, bakteri tidak langsung tumbuh dan membelah, meskipun kondisi media sangat mendukung untuk pertumbuhan. Bakteri akan mengalami masa penyesuaian untuk menyeimbangkan pertumbuhan.

## 2. Fase *log*

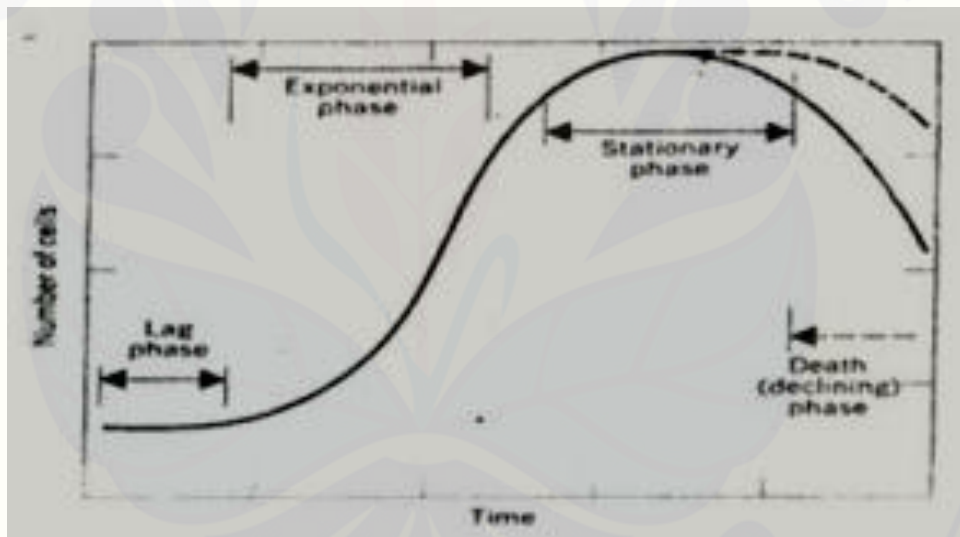
Pada fase ini populasi meningkat dua kali pada interval waktu yang teratur. Jumlah koloni bakteri akan terus bertambah seiring lajunya aktivitas metabolisme sel.

## 3. Fase tetap

Pada fase ini terjadi kompetisi antara bakteri untuk memperoleh nutrisi dari media untuk tetap hidup. Sebagian bakteri mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah sehingga jumlah sel bakteri yang hidup menjadi tetap.

## 4. Fase kematian

Pada fase ini sel bakteri akan mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru. Laju kematian mengalami percepatan yang eksponensial.



Gambar 2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri (Sumber: Pratiwi, 2008)

## 2.5 Zat Antimikroba

Bahan antimikroba menurut Pelczar (1988) diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan mikroba. Volk (1990) mendefinisikan bahan antimikroba sebagai suatu komponen kimia yang berkemampuan mematikan mikroorganisme.

Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri. Zat antimikroba yang ideal memiliki toksisitas selektif yang berarti bahwa suatu obat berbahaya bagi parasit namun tidak membahayakan inang. Toksisitas selektif lebih bersifat relatif sehingga pada konsentrasi tertentu zat dapat ditoleransi oleh inang namun dapat merusak parasit (Pelczar, 1988).

Mekanisme kerja antimikroba dibagi menjadi empat cara yaitu:

1. Penghambat sintesis dinding

Bakteri memiliki dinding sel yang kaku, terdiri atas peptidoglikan, dan berfungsi untuk mempertahankan bentuk mikroorganisme dan menahan sel bakteri serta memiliki tekanan osmotik yang tinggi di dalam selnya. Mekanisme antimikroba ini yaitu dengan merusak dinding sel atau menghambat pembentukannya sehingga akan menyebabkan lisis pada sel.

2. Penghambat fungsi selaput sel

Sitoplasma dibatasi oleh selaput sitoplasma yang berfungsi sebagai penghalang dengan permeabilitas aktif, melakukan fungsi transportasi aktif dan mengendalikan susunan dalam sel. Mekanisme kerja antimikroba akan mengganggu integritas fungsi selaput sitoplasma sehingga makromolekul dan ion dalam sel akan lolos keluar sel yang selanjutnya akan terjadi kerusakan atau kematian sel.

3. Penghambatan sintesis protein

Mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom yang pada akhirnya dapat mengganggu proses translasi dan transkripsi bahan genetik.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat

Penghambatan dilakukan dengan memutuskan ikatan polimerase RNA dan menghambat metabolisme folat (Lay, 1994).

Faktor utama yang menentukan bagaimana zat antibakteri bekerja adalah jumlah dan tipe mikroorganisme, kadar desinfektan, suhu dan masa pengeraman

(Volk, 1999). Faktor-faktor yang mempengaruhi efektifitas kerja antibakteri antara lain:

- a. Konsentrasi atau intensitas zat antimikroba. Semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang diberikan, maka akan semakin tinggi daya antimikroba yang dimiliki zat tersebut.
- b. Jumlah mikroorganisme. Semakin banyak populasi mikroorganisme yang diujikan dengan antimikroba, maka akan semakin lama waktu yang diperlukan untuk membunuh mikroorganisme tersebut.
- c. Suhu. Semakin tinggi suhu, maka zat antimikroba tidak akan bekerja secara efektif karena kandungan zat antimikrobanya akan hilang.
- d. Tipe mikroorganisme. Setiap mikroorganisme memiliki kerentanan yang berbeda-beda terhadap bahan kimia (zat antimikroba).
- e. Keasaman atau kebasaan. Konsentrasi  $H^+$  dalam larutan dapat mempengaruhi efektifitas dari bahan pembunuh. Mikroorganisme yang terdapat pada bahan dengan pH asam dapat dibasmi pada suhu yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan yang basa.

## **2.6 Buku Non-teks**

### **2.6.1 Definisi buku non-teks**

Buku pendidikan dapat memberikan pengalaman, pengetahuan, dan keterampilan kepada siswa tentang kehidupan dalam berbagai bidangnya, baik tentang diri, masyarakat, budaya, dan alam sekelilingnya, maupun tentang Tuhan yang menciptakan semua itu namun buku pendidikan harus sesuai dengan keperluan siswa sehingga memberi kemudahan untuk digunakan oleh pembelajar, baik dalam pendidikan formal maupun pendidikan nonformal sebagaimana tertuang di dalam Peraturan Menteri Pendidikan Nomor 2 tahun 2008 pasal 6 (2) yang menyatakan bahwa “selain buku teks pelajaran, pendidik dapat menggunakan buku panduan pendidik, buku pengayaan, dan buku referensi dalam proses pembelajaran”.



Buku non-teks pelajaran berbeda dengan buku teks pelajaran. Berdasarkan makna leksikal, buku teks pelajaran merupakan buku yang dipakai untuk mempelajari atau mendalami suatu subjek pengetahuan dan ilmu serta teknologi sehingga mengandung penyajian asas-asas tentang subjek tersebut, termasuk karya kependitaan (*scholarly, literary*) terkait subjek yang bersangkutan (Pusat Perbukuan, 2008).

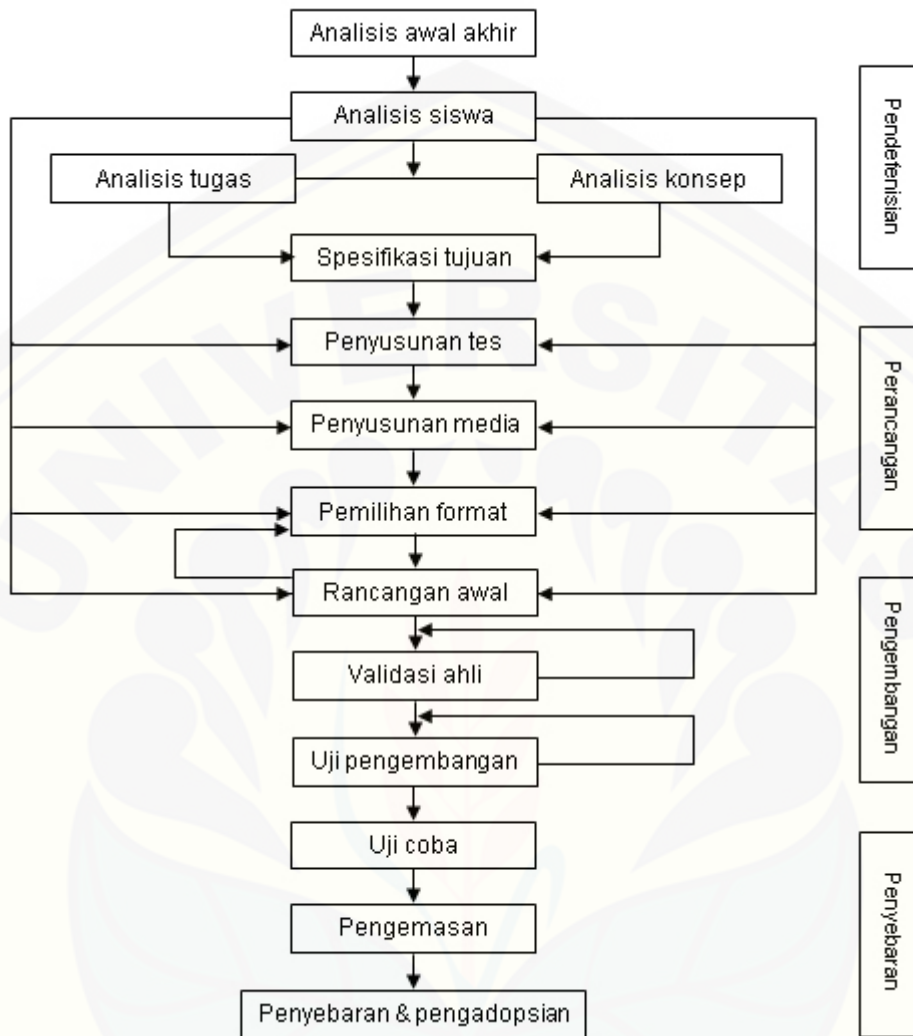
Buku non-teks adalah 1) buku yang dapat digunakan di sekolah namun bukan merupakan buku pegangan pokok bagi peserta didik dalam mengikuti kegiatan pembelajaran; 2) buku non-teks tidak menyajikan materi yang dilengkapi dengan instrumen evaluasi dalam buku tes atau ulangan, LKS (Lembar Kerja Siswa) atau bentuk lainnya yang diharapkan penulis; 3) penerbitan buku non-teks pelajaran tidak terkait dengan sebagian atau salah satu standart Kompetensi Dasar yang tertuang dalam Standart Isi; 4) materi atau isi buku non-teks dapat dibaca oleh semua jenjang pendidikan dan tingkatan kelas; 5) materi atau isi buku non-teks cocok digunakan sebagai bahan pengayaan, rujukan panduan dalam pendidikan atau pembelajaran (Pusat Perbukuan Depdiknas, 2005).

#### 2.6.2 Model Penyusunan Buku Non-Teks 4-D

Model pengembangan 4-D (*Four D*) merupakan model pengembangan perangkat pembelajaran. Model ini dikembangkan oleh S. Thagarajan, Dorothy S. Semmel, dan Melvyn I. Semmel. Model pengembangan 4-D terdiri atas 4 tahap utama yaitu: (1) *Define* (Pembatasan), (2) *Design* (Perancangan), (3) *Develop* (Pengembangan) dan *Disseminate* (Penyebaran), atau diadaptasi Model 4-P, yaitu Pendefinisian, Perancangan. Secara garis besar keempat tahap tersebut sebagai berikut (Trianto, 2007).

- 1) Tahap Pendefinisian (*define*). Tujuan tahap ini adalah menetapkan dan mendefinisikan syarat-syarat pembelajaran diawali dengan analisis tujuan dari batasan materi yang dikembangkan perangkatnya. Tahap ini meliputi 5 langkah pokok, yaitu: (a) Analisis ujung depan, (b) Analisis siswa, (c) Analisis tugas, (d) Analisis konsep, dan (e) Perumusan tujuan pembelajaran.

- 2) Tahap Perencanaan (*Design*). Tujuan tahap ini adalah menyiapkan prototipe perangkat pembelajaran. Tahap ini terdiri dari empat langkah yaitu: (a) Penyusunan tes acuan patokan, merupakan langkah awal yang menghubungkan antara tahap define dan tahap design. Tes disusun berdasarkan hasil perumusan Tujuan Pembelajaran Khusus (Kompetensi Dasar dalam kurikulum KTSP). Tes ini merupakan suatu alat mengukur terjadinya perubahan tingkah laku pada diri siswa setelah kegiatan belajar mengajar; (b) Pemilihan media yang sesuai tujuan, untuk menyampaikan materi pelajaran; (c) Pemilihan format. Di dalam pemilihan format ini misalnya dapat dilakukan dengan mengkaji format-format perangkat yang sudah ada dan yang dikembangkan di negara-negara yang lebih maju.
- 3) Tahap Pengembangan (*Develop*). Tujuan tahap ini adalah untuk menghasilkan perangkat pembelajaran yang sudah direvisi berdasarkan masukan dari pakar. Tahap ini meliputi: (a) validasi perangkat oleh para pakar diikuti dengan revisi; (b) simulasi yaitu kegiatan mengoperasikan rencana pengajaran; dan (c) uji coba terbatas dengan siswa yang sesungguhnya. Hasil tahap (b) dan (c) digunakan sebagai dasar revisi. Langkah berikutnya adalah uji coba lebih lanjut dengan siswa yang sesuai dengan kelas sesungguhnya.
- 4) Tahap penyebaran (*Disseminate*). Pada tahap ini merupakan tahap penggunaan perangkat yang telah dikembangkan pada skala yang lebih luas misalnya di kelas lain, di sekolah lain, oleh guru yang lain. Tujuan lain adalah untuk menguji efektivitas penggunaan perangkat di dalam KBM.



Gambar 2.4 Model pengembangan 4-D

## 2.7 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka, hipotesis penelitian adalah sebagai berikut :

- Adanya pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang signifikan berbeda nyata antar masing-masing konsentrasi.
- air *kombucha* sari buah belimbing wuluh mempunyai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

- c. Hasil penelitian “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*” dapat digunakan sebagai buku non-teks.



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

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

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

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

### 3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah air fermentasi *kombucha* sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam berbagai serial konsentrasi.

b. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat.

c. Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu inkubasi, jenis medium, dan metode inokulasi.

### 3.4 Definisi Operasional

a. *Kombucha* sari buah belimbing wuluh adalah hasil fermentasi berupa air yang diperoleh dari sari buah belimbing wuluh dan gula kelapa yang telah ditambah dengan starter *kombucha*.

b. Sari buah belimbing wuluh adalah sari perasan buah belimbing wuluh dan gula.

- c. Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif berukuran  $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$  yang tidak berflagel, bergerak aktif, tidak berspora dan berbentuk batang pendek. Bakteri *E. coli* merupakan organisme penghuni utama usus besar yang hidupnya komensial dalam kolon manusia dan sering menimbulkan penyakit diare.
- d. Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah dari air *kombucha* sari buah belimbing wuluh yang menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *invitro* dan dinyatakan dalam persentase, semakin kecil KHM maka semakin besar daya hambatnya.
- e. Zona hambat/bening adalah zona hambat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran dan dihitung menggunakan jangka sorong/penggaris dengan cara luas diameter zona hambat/zona bening dikurangi diameter sumuran.
- f. Buku non-teks dalam penelitian ini adalah buku pengayaan pengetahuan yang digunakan masyarakat umum dan hanya sebagai buku bacaan, bukan buku pegangan pokok dalam proses pembelajaran.

### 3.5 Prosedur Penelitian Eksperimental

Prosedur penelitian eksperimental terdiri dari beberapa tahap:

#### 3.5.1 Tahap Persiapan

##### a. Sterilisasi Alat

Bahan dan peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan dan peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya. Mikroba yang dimaksud adalah mikroba yang tidak baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu pertumbuhan bakteri dan proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria, 1997). Alat-alat yang perlu disterilkan antara lain tabung rekasi, beaker glass, cawan petri, medium yang belum dicetak, evendrop, pengaduk,

tip dan lainnya dimasukkan kedalam autoklaf supaya steril. Jarum ose, pisau, pinset disterilkan dengan cara dipanaskan diatas api bunsen sampai pijar, kemudian dimasukkan kedalam alkohol 70%. Alat-alat dipanaskan kembali untuk menghilangkan sisa-sisa alkohol (Waluyo dan Wahyuni, 2013).

*b. Pembuatan Medium*

Medium NA digunakan untuk membuat medium miring (tabung reaksi) untuk peremajaan, dan medium cawan pada uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimal). Keduanya dibuat dari larutan NA yaitu medium yang diberi agar sehingga pada suhu kamar medium akan mengeras dengan jumlah sesuai kebutuhan, setiap 20 gram serbuk NA dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades hingga mendidih sambil diaduk, setelah itu medium NA tersebut di autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Medium NA setelah diautoklaf siap dibuat dengan cara menuangkan NA kedalam cawan petri yang sudah disterilkan kurang lebih sebanyak 20 ml dan membiarkan NA dalam cawan petri hingga dingin kemudian membungkus cawan petri dengan kertas kayu. Pembuatan medium NA miring dengan cara memasukkan larutan medium NA pada tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml, kemudian medium NA diautoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit. Masing-masing tabung reaksi setelah diautoklaf diletakkan dalam posisi miring sekitar 15°C dan dibiarkan sampai dingin. Pembuatan NB prosedurnya juga sama dengan NA, namun untuk membuat NB dilakukan dengan menimbang serbuk NB sebanyak 8 gr/liter. Setelah NB telah homogen, kemudian NB dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml (Waluyo & Wahyuni, 2013).

*c. Karakterisasi Bakteri Escherichia coli*

Karakterisasi ini dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan bahwa biakan bakteri yang akan digunakan dalam penelitian merupakan bakteri *Escherichia coli*. Karakterisasi bakteri *E. coli* ini dilakukan melalui dua cara yaitu:

1) Pewarnaan Gram

Stok bakteri *Escherichia coli* dilakukan identifikasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Pewarnaan gram bertujuan untuk memastikan bakteri yang diujikan merupakan *Escherichia coli*. Cara mengidentifikasi bakteri yang akan diujikan yaitu meliputi karakterisasi morfologi. Karakteristik morfologi bakteri dilakukan dengan pengecatan gram yaitu dengan mengambil sebanyak satu ose bakteri diencerkan pada gelas obyek. Fiksasi dilakukan dengan cara melewatkan gelas objek tersebut di atas api bunsen beberapa kali selanjutnya menambahkan sebanyak satu tetes kristal violet dan dibiarkan selama satu menit. Buang sisa kristal violet dengan cara dihisap dengan kertas hisap atau tisu dan apabila telah kering maka ditambahkan satu tetes larutan lugol pada sediaan dan dibiarkan selama satu menit kemudian dibilas dengan akuades. Sisa zat warna selanjutnya dilunturkan dengan alkohol 95% selama 10-30 detik sampai sisa zat warna hilang, bilas dengan air bersih dan mengalir kemudian isolat bakteri ditambahkan safranin selama 10-30 detik dan dicuci dengan akuades dan keringkan dengan kertas pengering selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan lensa perbesaran 10x100. Bakteri gram negatif akan menunjukkan warna merah dan bakteri gram positif akan menunjukkan warna ungu (Waluyo & Wahyuni, 2013).

## 2) Uji Biokimiawi

Pada uji biokimia terdapat 3 macam pengujian, yaitu uji pembentukan nitrat, katalase, dan amonia. Langkah awal yang dilakukan dalam uji biokimiawi yaitu dengan inokulasi biakan murni *Escherichia coli* pada medium dalam tabung dan 1 medium dalam tabung digunakan sebagai kontrol, kemudian biakan bakteri tersebut diinkubasi pada temperatur 37°C.

### a) Uji Pembentukan Nitrat

Salah satu cara pengujian adanya nitrat dapat dilakukan inkubasi selama 2 hari pada temperatur 37°C kemudian menuangkan 1 ml



larutan asam sulfanilat dan 1 ml larutan  $\alpha$ -naphthylamine dan digojog sehingga terbentuk warna merah (menunjukkan terbentuknya nitrat) .

b) Uji Pembentukan Katalase

Biakan murni bakteri yang telah diinkubasi selama  $\pm 48$  jam, larutan  $H_2O_2$  ditambah dengan 5 ml akuades, dikocok agar homogen lalu mengambil 1 ose biakan murni bakteri dan dioleskan pada kaca benda lalu ditambahkan 1 tetes larutan uji katalase pada kaca benda tersebut dan jika terbentuk buih, maka menunjukkan terbentuknya katalase.

c) Uji Pembentukan Amonia

Biakan murni bakteri yang telah diinkubasi selama  $\pm 48$  jam, kemudian diletakkan kertas lakmus merah pada mulut tabung berisi biakan bakteri sehingga kertas lakmus terjepit oleh tutup kapas. Tabung diletakkan pada air mendidih selama 5 menit dan jika kertas lakmus menjadi biru menunjukkan adanya amonia (bau menyengat).

d. Identifikasi Starter Kombucha

Starter *kombucha* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Perumahan Muktisari Jember. Peneliti harus mengetahui apakah *kombucha* yang digunakan dalam penelitian ini benar sehingga harus dilakukan beberapa identifikasi, yaitu dengan melihat morfologi koloni dari *kombucha* tersebut. *Kombucha* terdiri atas air hasil fermentasi dan lapisan gelatinoid dengan membran yang liat dan berbentuk piringan sesuai dengan bentuk tempatnya, berwarna putih, bertekstur kenyal seperti karet serta hidup dalam lingkungan nutrisi yang sesuai dan tumbuh terus menerus membentuk susunan lempengan berlapis (Frank, 1996). Identifikasi *kombucha* juga dilakukan identifikasi mikroba penyusun *kombucha*, yaitu identifikasi morfologi *Acetobacter* sp. dan *Saccharomyces* sp.. Identifikasi mikroba dapat dilakukan dengan uji pewarnaan gram dan morfologi mikroba dengan pengamatan di bawah mikroskop di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi

Universitas Jember. Langkah-langkah dalam pewarnaan gram adalah sebagai berikut:

- 1) Membuat dan memfiksasi sediaan bakteri pada gelas obyek;
- 2) Meneteskan Kristal violet pada sediaan bakteri dan membiarkan selama 1 menit;
- 3) Membuang sisa Kristal violet dari gelas obyek;
- 4) Meneteskan larutan lugol pada sediaan bakteri dan membiarkan selama 1 menit;
- 5) Membuang sisa larutan lugol dari gelas obyek;
- 6) Membilas gelas obyek dengan meneteskan air yang bersih;
- 7) Meneteskan alkohol 95% selama 10-20 detik untuk menghilangkan sisa zat warna;
- 8) Membilas gelas obyek dengan meneteskan air yang bersih;
- 9) Meneteskan safranin pada sediaan bakteri dan membiarkan selama 10-30 detik;
- 10) Membuang sisa safranin dari gelas obyek;
- 11) Membilas gelas obyek dengan meneteskan air yang bersih;
- 12) Mengeringkan gelas obyek dengan kertas saring;
- 13) Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x100.

Bakteri akan menunjukkan warna biru-ungu maka tergolong bakteri gram positif sedangkan bakteri yang berwarna merah tergolong bakteri gram negatif (Waluyo & Wahyuni, 2013). Bakteri *Acetobacter* sp. akan menunjukkan warna merah setelah pewarnaan gram karena tergolong dalam bakteri gram negatif, dan berbentuk basil/batang. Jamur *Saccharomyces* sp. dilakukan pewarnaan gram dengan tahap yang sama dan diamati mikroskop. Khamir *Saccharomyces* sp. akan menunjukkan bentuk bulat besar, bertunas dan berwarna putih.

e. *Pembuatan Inokulum*

Pembuatan biakan turunan (subkultur) dari biakan murni untuk persediaan biakan murni perlu dilakukan dengan cara mengambil 1 ose biakan isolat *Escherichia coli*, kemudian ditanam pada *nutrient* agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

f. *Pembuatan Suspensi Bakteri Escherichia coli*

Suspensi dibuat dengan cara mencampur 1 ose biakan murni agar miring *Escherichia coli*, kemudian ditanam kedalam tabung reaksi yang berisi 2 ml medium nutrient broth (NB). Suspensi tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam suspensi bakteri yang telah diinkubasi disesuaikan dengan standar larutan 0,5 McFarland ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) pada  $\lambda$  580 nm hingga diperoleh transmittan 87% dan absorban 0,05 (bila perlu dilakukan pengenceran lagi) dengan menambah akuades steril (Suswati dan Mufida, 2009).

g. *Pengamatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*

Pengamatan kurva pertumbuhan bakteri bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan optimum bakteri dan waktu inokulum. Cara pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1) Biakan murni bakteri *E. coli* diluruhkan menggunakan jarum ose,
- 2) Dituangkan 5 ml akuades dalam biakan murni bakteri *E. coli* yang telah diluruhkan, kemudian di-*vortex* supaya menjadi homogen,
- 3) Diambil 1 ml (1000  $\mu$ l) dan dimasukkan ke dalam akuades 9 ml, lalu di-*vortex*,
- 4) Pembuatan pengenceran  $10^{-3}$  dengan cara pengambilan 100  $\mu$ l dari campuran biakan bakteri *E. coli* dengan akuades,
- 5) Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 900  $\mu$ l larutan garfis, pengenceran dilakukan sampai  $10^{-7}$ ,

6) Jumlah koloni mikroorganisme dihitung dengan *haemocytometer* setiap 4 jam selama 48 jam inkubasi sehingga didapatkan kurva pertumbuhan (Waluyo dan Wahyuni, 2013).

7) *Pembuatan Air Kombucha Sari Buah Belimbing Wuluh*

Buah *buluh* (belimbing wuluh) diperoleh dari daerah Jember. Buah belimbing wuluh dengan komposisi 250 gr diblender halus dan disaring lalu dimasak. Ampas buah belimbing wuluh disaring hingga menghasilkan 200 ml sari buluh ketika mendidih dan ditambah gula 20 gr lalu dimasukkan kedalam botol gelas bening yang telah disterilkan dengan alkohol. Botol gelas bening tersebut ditutup dengan kondisi tidak terlalu rapat karena fermentasi *kombucha* memerlukan aerasi yang cukup dan ditunggu sampai dingin. Kemudian memasukkan 20 ml starter *kombucha* yang terdiri dari air fermentasi *kombucha tea* dan nata. Botol gelas yang telah diisi kemudian ditutup seperti semula dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 21-29°C. Perlakuan ini dilakukan sampai air fermentasi memproduksi serat selulosa yang disebut nata baru selama 14 hari dan memproduksi rasa yang khas.

### 3.5.2 Tahap Uji Pendahuluan

Tahap uji pendahuluan terdiri atas pengenceran air *kombucha sari buluh* (belimbing wuluh). Pengenceran dilakukan dengan melarutkan air *kombucha sari buluh* menggunakan akuades steril. Kegiatan pengenceran ini akan menghasilkan beberapa macam serial konsentrasi.

Pembuatan serial konsentrasi disesuaikan dengan rumus pengenceran menurut Petrucci (1992) berikut dengan hasil penghitungan yang dapat dilihat pada Tabel 3.1. Pembuatan serial konsentrasi disesuaikan dengan rumus pengenceran berikut ini:

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan:

V1 = Volume mula-mula

N1 = Konsentrasi mula-mula  
 V2 = Volume kedua  
 N2 = Konsentrasi kedua

Tabel 3.1 Takaran konsentrasi air fermentasi *kombucha* sari buah buluh untuk uji pendahuluan

Konsentrasi	Volume air fermentasi <i>kombucha</i> sari buah buluh	Volume akuades steril
10%	100 µl	900 µl
20%	200 µl	800 µl
30%	300 µl	700 µl
40%	400 µl	600 µl
50%	500 µl	500 µl
60%	600 µl	400 µl
70%	700 µl	300 µl
80%	800 µl	200 µl
90%	900 µl	100 µl
100%	1000 µl	0

Pengujian serial konsentrasi air *kombucha* sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dilakukan dengan cara yaitu:

- Mengambil 1 ose biakan bakteri *E. coli*, kemudian diinokulasi ke dalam tabung reaksi berisi larutan broth/larutan fisiologis steril dengan volume 5 ml.
- Tabung reaksi berisi biakan bakteri tersebut kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- Mengambil 10µl larutan broth/larutan fisiologis yang telah ditumbuhi bakteri *E. coli*, kemudian memasukkan ke dalam larutan broth/larutan fisiologis baru dengan volume 5 ml.
- Membandingkan kekeruhannya dengan standar yang diukur menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  580 nm yang disesuaikan dengan standar larutan 0.5 McFarland ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) nm hingga diperoleh transmittan 87% dan absorban 0.05 dengan menambah akuades steril.
- Mengambil 100 µl suspensi bakteri *E. coli* dari hasil pengenceran bakteri, kemudian dituangkan pada medium NA yang cair dengan suhu  $\pm 50^\circ\text{C}$  dalam tabung reaksi dan di-*vortex* sampai homogen.

- f) Medium yang mengandung bakteri tersebut dituangkan pada cawan petri dan ditunggu hingga memadat.
- g) Campuran medium dan bakteri yang telah padat diberi 7 buah lubang sumuran yang dibuat menggunakan pipa sumuran yang telah disterilkan. Setiap lubang sumuran memiliki diameter 0.5 cm.
- h) Tiap lubang sumuran diisi dengan air *kombucha* sari buluh dengan konsentrasi berbeda. Volume air fermentasi *kombucha* sari buah buluh yang digunakan yaitu sebanyak 25  $\mu$ l.
- i) Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Waluyo dan Wahyuni, 2013).

Setelah diinkubasi selama 24 jam, daya hambat minimum air *kombucha* sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat diketahui dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran yang merupakan zona hambat dengan menggunakan jangka sorong.

$$\text{Diameter Hambatan} = d2 - d1$$

Keterangan:

d1 = diameter sumuran

d2 = diameter zona bening di sekitar sumuran (Alcano, dalam Sumiati, 2003).

Pengujian pendahuluan dilakukan sebelum melakukan uji akhir tanpa melakukan pengulangan dan analisis. Hasil dari uji pendahuluan ini digunakan sebagai acuan dalam penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) air *kombucha* sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada pengujian akhir. Tujuan dari uji pendahuluan ini adalah untuk mencari konsentrasi dari air *kombucha* sari buluh yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kontrol yang digunakan adalah kontrol positif berupa kloramfenikol 1% dan kontrol negatif berupa akuades steril.

### 3.5.3 Tahap Uji Akhir

Pengujian akhir dilakukan berdasarkan serial konsentrasi hasil dari uji pendahuluan. Jenis penelitian ini menggunakan eksperimental laboratoris dan

menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebanyak tiga kali dan dilakukan analisis untuk mengetahui perbedaan konsentrasi hambat minimum air *kombucha* sari buluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Peneliti melakukan uji pH dalam uji akhir pula. Uji akhir ini juga menggunakan akuades sebagai kontrol negatif (-) dan kloramfenikol 1% sebagai kontrol positif (+). Tahap uji akhir menggunakan metode sumuran dengan 7 lubang dengan masing-masing lubang diisi 25 µl suspensi (Waluyo & Wahyuni, 2013).

### 3.6 Analisis Data Penelitian

Data diameter zona hambat dianalisis dengan uji statistik *One-Way* (ANOVA) dengan derajat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui adanya pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jika hasil anova menunjukkan hasil yang signifikan.

### 3.7 Penyusunan Buku Non-Teks

Penyusunan buku non-teks yang dikembangkan disusun berdasarkan hasil penelitian Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* menggunakan model 4-D. Antibakteri tersebut perlu untuk diketahui oleh masyarakat luas agar mereka bisa menggunakannya sebagai pengetahuan baru yang bermanfaat untuk kehidupan sehari-hari karena bakteri *E. coli* yang menyebabkan penyakit diare merupakan penyakit yang bisa menyerang kapanpun dan dimanapun. Peneliti perlu untuk membuat buku non-teks yang bahasanya bisa mudah dipahami dan prosesnya tidak terlalu rumit. Penelitian ini menggunakan empat tahap yaitu: 1) *Define*, 2) *Design* 3) *Development*, dan 4) *Dissemination*, akan tetapi dalam penelitian ini tahap *Dissemination* tidak dilakukan karena keterbatasan waktu. Tahapan penyusunan buku non-teks yang dilakukan penyusun adalah sebagai berikut.

- a. Tahap *Define*. Pada tahapan ini dilakukan pembentukan tim partisipasi (*team partisipatory*). Tim dapat berasal dari dosen dan masyarakat umum yang mempunyai keahlian dalam bidang media, dan ahli materi biologi yang bertujuan untuk mendapatkan masukan atau informasi dari sudut pandang yang berbeda-beda. Tahap pendefinisian juga dilakukan dengan membuat daftar kuesioner untuk buku non-teks yang disusun (daftar instrumen validasi buku non-teks dapat dilihat pada Lampiran E, halaman 85).
- b. Tahap *Design*. Kegiatan yang dilakukan dalam desain difokuskan pada empat kegiatan, yakni: a) memilih lingkungan pengembangan; b) memilih format dan media berdasarkan beberapa literatur dan hasil yang diperoleh selama penelitian laboratorik; c) menentukan strategi evaluasi dengan menyiapkan angket penilaian; dan d) menghasilkan draft atau produk bahan ajar. Buku non-teks yang akan disusun dan dikembangkan dengan *outline* sebagai berikut.
  - 1) Judul
  - 2) Halaman persembahan
  - 3) Kata pengantar
  - 4) Daftar isi
  - 5) Daftar gambar
  - 6) Bab 1. *Kombucha*
  - 7) Bab 2. Buah belimbing wuluh
  - 8) Bab 3. *Kombucha* sari *buluh* sebagai minuman herbal obat diare
  - 9) Bab 4. Penutup
  - 10) Daftar bacaan
  - 11) Glosarium
- c. Tahap *Development*. Uji buku non-teks dilakukan setelah berbentuk produk. Uji buku bertujuan untuk menilai kelayakan produk buku non-teks yang akan digunakan sebagai buku bacaan masyarakat luas. Uji buku non-teks dilakukan dengan penilaian 4 validator, yaitu 2 orang dosen FKIP Universitas Jember



(yang merupakan ahli media dan ahli materi biologi) dan 2 validator masyarakat umum (ahli hasil produk nata).

Buku non-teks yang dihasilkan akan divalidasi oleh 2 orang dosen FKIP Universitas Jember dan 2 validator masyarakat umum. Analisis data yang diperoleh dari validator berupa data kuantitatif dan kualitatif berupa saran dan komentar data deskriptif yang berupa saran dan komentar tentang kelemahan dan keunggulan buku non-teks. Adapun kriteria tingkatan yang dinilai adalah sebagai berikut (Sudjana, 1996).

- (1) Skor 4, apabila validator memberikan nilai sangat baik
- (2) Skor 3, apabila validator memberikan nilai baik
- (3) Skor 2, apabila validator memberikan nilai cukup
- (4) Skor 1, apabila validator memberikan nilai kurang

Data yang diperoleh dalam tahap pengumpulan data dengan instrumen pengumpulan data, dianalisis dengan menggunakan teknik analisis data presentase. Rumus untuk pengolahan data secara keseluruhan sebagai berikut.

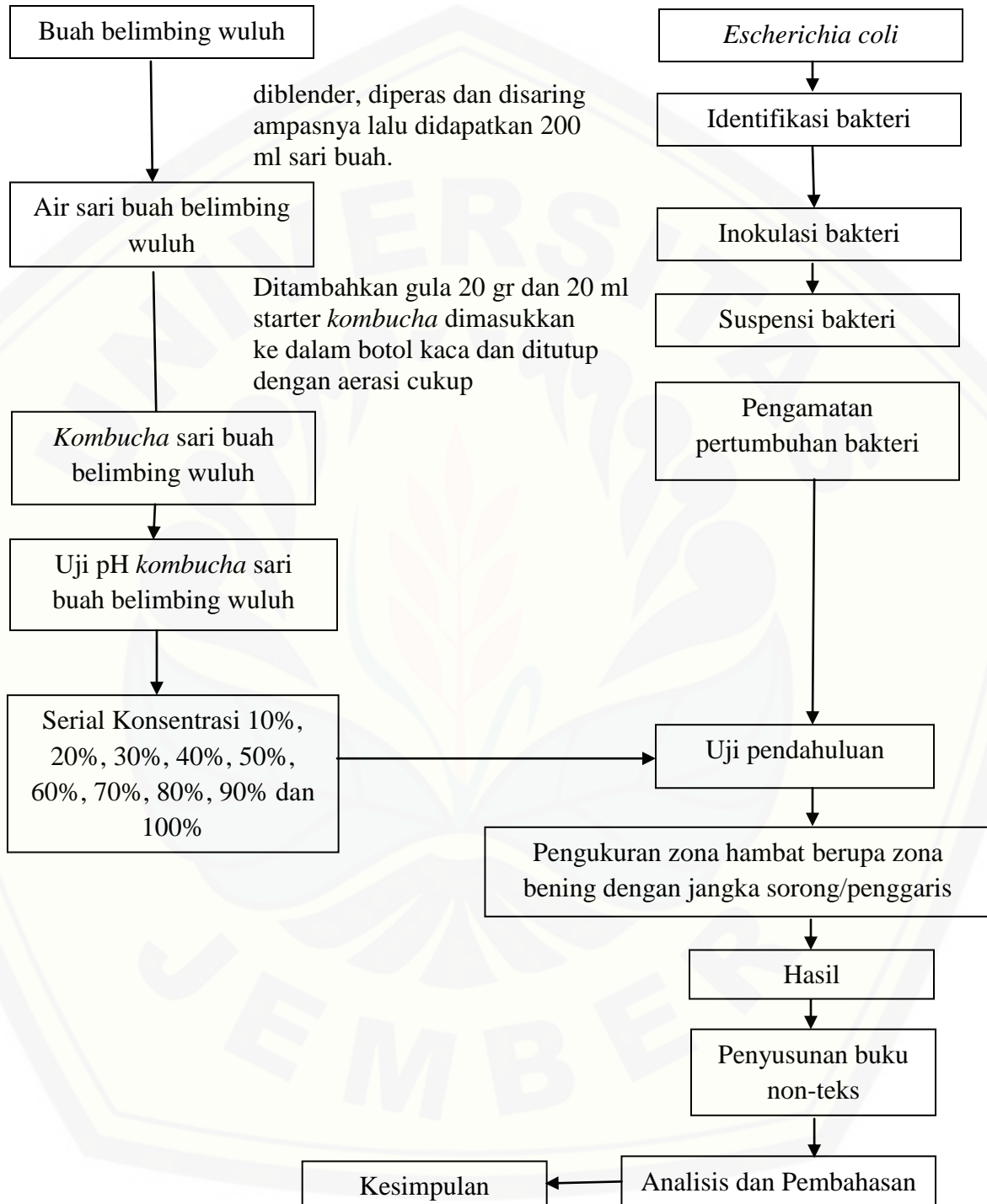
$$\text{Presentase} = \frac{\text{Skor yang didapat}}{\text{Skor maksimal}} \times 100\%$$

Data presentase penilaian yang diperoleh selanjutnya dapat diubah menjadi data kuantitatif deskriptif menggunakan kriteria validitas pada Tabel berikut ini.

Tabel 3.2 Kriteria Validasi Buku Non-teks

No	Nilai	Kualifikasi	Keputusan
1	80% - 100%	Valid	Produk baru siap dimanfaatkan di lapangan sebenarnya untuk kegiatan pembelajaran
2	60% - 79%	Cukup valid	Produk dapat dilanjutkan dengan menambahkan sesuatu yang kurang, melakukan pertimbangan-pertimbangan tertentu, penambahan yang dilakukan tidak terlalu besar dan tidak mendasar
3	50% - 59%	Kurang valid	Merevisi dengan meneliti kembali secara seksama dan mencari kelemahan-kelemahan produk untuk disempurnakan
4	< 50%	Tidak valid	Merevisi secara besar-besaran dan mendasar tentang isi produk

### 3.8 Skema Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian Eksperimental

Penelitian tentang pengaruh *kombucha* sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* telah dilakukan pada bulan Februari 2015 sampai Mei di Laboratorium Mikrobiologi, FKIP Biologi, Universitas Jember. Hasil penelitian yang telah dilakukan antara lain: uji karakterisasi bakteri *Escherichia coli*, identifikasi starter *kombucha* buah belimbing wuluh, kurva pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, morfologi buah belimbing wuluh, uji pendahuluan, uji akhir serta uji validasi buku karya ilmiah populer. Uraian berikut menyajikan data-data yang diperoleh selama penelitian.

#### 4.1.1 Hasil Pengamatan Karakterisasi Bakteri *Escherichia coli*

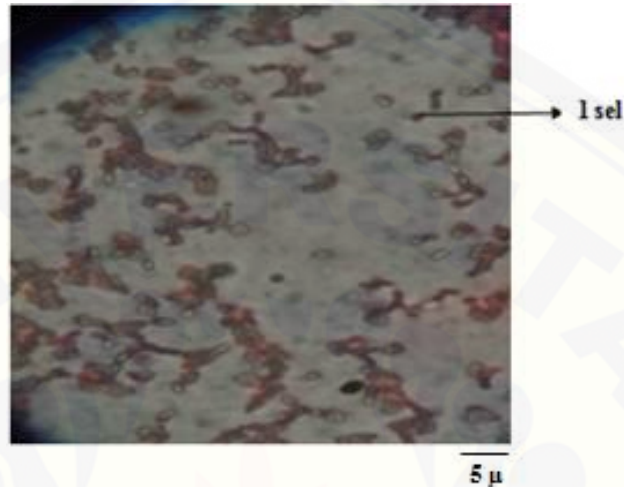
Pengamatan bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram dan uji biokimia untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah benar bakteri *Escherichia coli*. Hasil pengamatan bakteri *Escherichia coli* dengan pewarnaan gram dan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Bakteri *E. coli* dengan Pewarnaan Gram dan Uji Biokimia  
**Hasil Uji Karakterisasi Bakteri *E. coli***

Morfologi (Pewarnaan Gram)	Uji Biokimia		
	Nitrat	Katalase	Amoniak
Bentuk batang pendek	Positif	Positif	Positif (kertas
Warna merah	(terbentuk warna merah)	(terdapat gelembung)	lakmus berubah warna biru)
Golongan bakteri Gram negatif			

Dari Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa bakteri *Escherichia coli* berwarna merah yang menandakan bakteri tersebut tergolong bakteri gram negatif dan berbentuk batang pendek. Hal ini seperti yang dinyatakan oleh Anggraeni (2012) bahwa bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang pendek, bersifat gram negatif, tidak bersimpai, bergerak aktif, dan tidak berspora. Warna merah yang terbentuk pada hasil

pengamatan menandakan bakteri dapat melunturkan zat warna ungu dari kristal violet dan mengikat safranin. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x10 seperti terlihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil Pengamatan Bakteri *Escherichia Coli*: setelah dilakukan Pewarnaan Gram Tampak Berwarna Merah dan Berbentuk Basil (perbesaran 100x10) (koleksi pribadi)

Hasil yang didapat untuk uji nitrat yaitu terbentuknya warna merah isolat yang menunjukkan terbentuknya nitrat. Uji biokimia katalase terlihat adanya gelembung-gelembung yang menunjukkan positif terjadinya reduksi hidrogen peroksida sedangkan uji biokimia pembentukan amonia menghasilkan perubahan warna kertas lakmus menjadi biru dan bau yang menyengat. Rujukan gambar dapat dilihat pada Lampiran D.3.1, halaman 83.

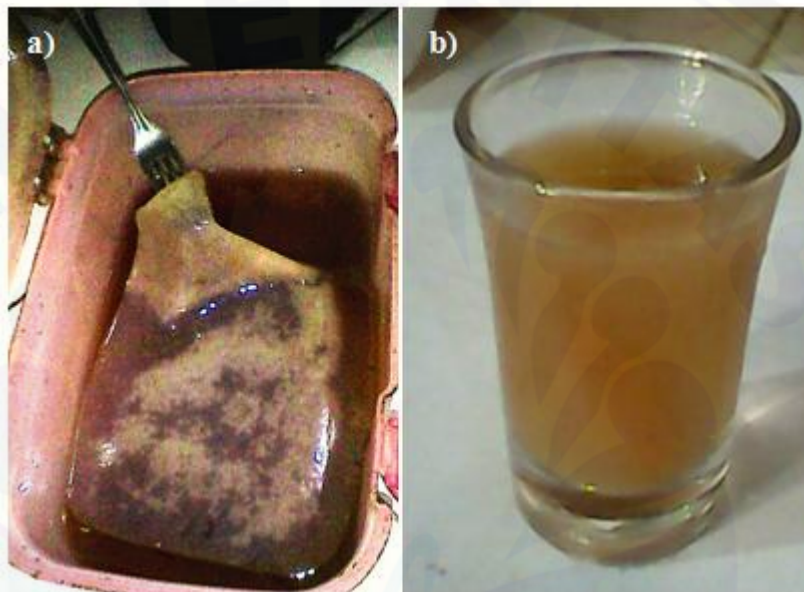
#### **4.1.2 Hasil Identifikasi starter Kombucha sari buluh (Buah Belimbing Wuluh)**

Identifikasi morfologi starter *kombucha* sari *buluh* dilakukan pada awal penelitian dimana starter *kombucha* menunjukkan adanya lapisan nata dan air hasil fermentasi dari aktivitas kultur bakteri *Acetobacter* sp. dan jamur *Saccharomyces* sp. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan sifat morfologi dari kedua organisme tersebut. Tujuan dari pengamatan ini adalah agar starter *kombucha* yang digunakan

sesuai dengan teori yang ada serta agar tidak terjadi kesalahan dalam penggunaan starter *kombucha*.

#### a. Identifikasi Starter *Kombucha*

Pengamatan pertama dengan melakukan pengamatan morfologi nata *kombucha* secara langsung seperti pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 a) Starter *Kombucha* berupa Air Fermentasi dan Lapisan Nata *Kombucha*, b) Air *Kombucha* sari buluh (koleksi pribadi)

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan lapisan nata *kombucha*

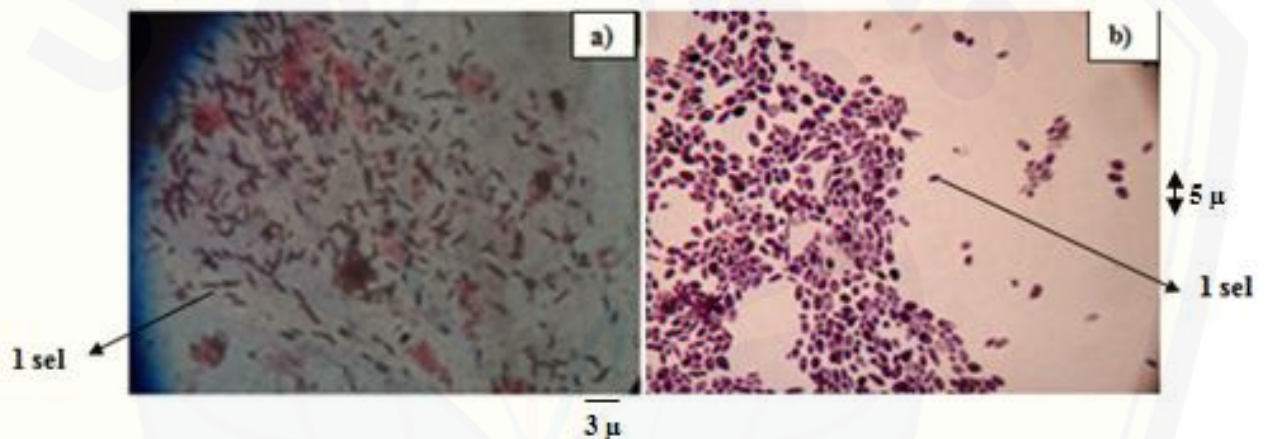
Pengamatan nata <i>kombucha</i>	Hasil
Warna nata	Kecoklatan
Bentuk nata	Tampak membran tipis berlapis

Dari Gambar 4.2, nata *kombucha* tampak membran yang liat dan berbentuk lapisan (menyerupai bentuk tempatnya), berwarna kecoklatan yang bertekstur kenyal seperti karet, hidup dalam lingkungan nutrisi yang sesuai serta tumbuh terus menerus membentuk susunan lempengan berlapis. Umur nata *kombucha* yang semakin tua akan berwarna lebih coklat dan berada di lapisan paling dasar, sedangkan nata *kombucha* yang muda akan berwarna putih dan terletak pada piringan yang berada di

lapisan atas. *Kombucha sari buluh* menghasilkan nata yang lebih tebal daripada teh *kombucha* karena penggunaan gula pasir yang merupakan medium sera makanan mikroorganisme *kombucha*. Aroma yang ditimbulkan dari starter *kombucha* adalah asam dan bila diminum airnya akan terasa asam dengan sedikit beralkohol.

b. *Identifikasi Morfologi sel Acetobacter dan khamir Saccharomyces*

Pengamatan morfologi sel mikroba penyusun *kombucha* dilakukan dengan pengamatan morfologi di bawah mikroskop. Pengamatan morfologi bakteri *Acetobacter* sp. dan morfologi khamir *Saccharomyces* sp. dengan menggunakan pewarnaan gram di bawah mikroskop seperti terlihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil Pengamatan Sel Penyusun *Kombucha*: a) bakteri *Acetobacter* sp. berwarna merah setelah pewarnaan gram dan berbentuk basil (perbesaran 10x100); b) khamir *Saccharomyces* sp. tanpa dilakukan pewarnaan gram berbentuk bulat (perbesaran 10x100).

Tabel 4.3 Hasil Pengamatan mikroorganisme penyusun starter *kombucha*

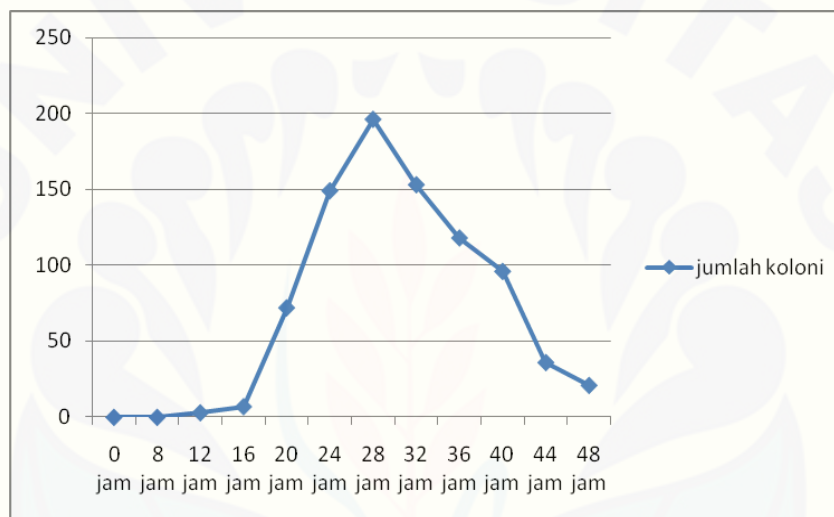
Kualifikasi	Bakteri <i>Acetobacter</i> sp.	Khamir <i>Saccharomyces</i> sp.
Warna	Merah	Putih
Bentuk	Bulat besar	Batang pendek

Hasil yang diperoleh setelah pengamatan adalah bahwa bakteri *Acetobacter* sp. berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut tergolong bakteri gram

negatif dan berbentuk batang pendek sedangkan untuk khamir *Saccharomyces* sp menunjukkan sel tunggal, bulat besar, berwarna putih, dan bertunas.

#### 4.1.3 Hasil Pengamatan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Pengamatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* disini bertujuan untuk mengetahui waktu pertumbuhan optimum dari bakteri tersebut. Kurva pertumbuhan bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan Gambar 4.4 diketahui bahwa 4 jam pertama bakteri berada pada fase lag yaitu penyesuaian sel bakteri terhadap lingkungan. Fase log ditunjukkan pada umur bakteri 8 jam sampai 16 jam, yaitu fase pembelahan sel bakteri dengan laju yang konstan. Fase eksponensial menunjukkan pertumbuhan populasi meningkat dua kali pada interval waktu yang teratur yaitu pada umur 20 sampai umur 28 jam sehingga pemberian antibakteri *kombucha* sari *buluh* dilakukan pada bakteri *E. coli* yang telah diinkubasi selama 24 jam. Tidak terdapat fase statis dari hasil penelitian ini. Fase kematian ditunjukkan lebih cepat yaitu dari umur bakteri 32 jam - 48 jam yang ditunjukkan dengan sel bakteri yang mati lebih banyak. Tidak adanya fase statis yang dihasilkan karena pengamatan dilakukan 4 jam sekali sehingga data yang

diperoleh kurang maksimal. Perhitungan dengan mata telanjang juga mempengaruhi hasil yang kurang efektif. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang mungkin terjadi adalah faktor intrinsik seperti pH dan kandungan media NA dan faktor ekstrinsik seperti kelembaban, tekanan gas/keberadaan gas, juga cahaya dan pengaruh sinar ultraviolet.

#### **4.1.4 Morfologi Buah Belimbing Wuluh**

Buah belimbing wuluh yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pohon buah belimbing wuluh yang berada di daerah Jalan Kalimantan 4 Kecamatan Sumbersari Jember seperti terlihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Buah Belimbing Wuluh yang Digunakan dalam Pembuatan *Kombucha* Sari *Buluh* Berwarna Hijau Segar dan Bentuk Lonjong (koleksi pribadi).

Buah belimbing wuluh yang digunakan adalah buah yang berbentuk bulat panjang, berwarna hijau segar dan mempunyai kadar air asam yang segar. Buah belimbing wuluh yang digunakan diambil dari satu pohon yang sama sehingga memiliki varietas yang sama pula.

#### **4.1.5 Hasil Uji Pendahuluan**

Uji pendahuluan dilakukan sebelum melakukan uji akhir tanpa melakukan pengulangan dan analisis. Uji pendahuluan juga digunakan untuk mencari serial

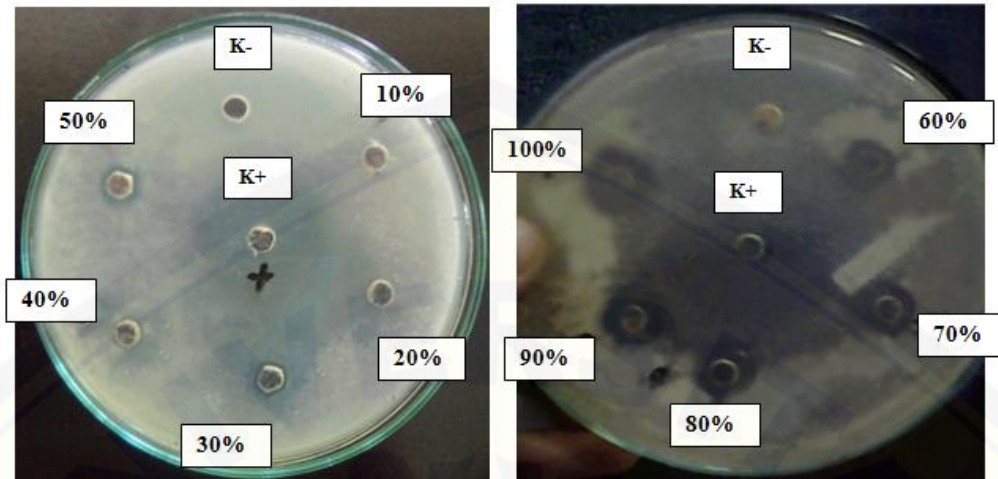


konsentrasi dari air *kombucha* sari *buluh* (*Averrhoa bilimbi* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Serial konsentrasi yang digunakan dalam uji pendahuluan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Uji pendahuluan menggunakan kontrol positif berupa kloramfenikol 1% dan kontrol negatif berupa akuades. Hasil dari uji pendahuluan yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 4.4 dengan mengurangi lebar sumuran (0,5 cm).

Tabel 4.4 Hasil uji pendahuluan lebar zona hambat tiap serial konsentrasi air fermentasi *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*

No	Konsentrasi <i>Kombucha</i> sari <i>buluh</i>	Lebar Zona Hambat
1.	10 %	0 cm
2.	20 %	0 cm
3.	30 %	0,17 cm
4.	40 %	0,20 cm
5.	50 %	0,28 cm
6.	60 %	0,42 cm
7.	70 %	0,52 cm
8.	80 %	0,54 cm
9.	90 %	0,63 cm
10.	100 %	0,72 cm
11.	K+ (Kloramfenikol 1%)	2,16 cm
12.	K- (Akuades)	0 cm

Berdasarkan Tabel 4.4, dapat diketahui bahwa lebar zona hambat ditunjukkan pada air *kombucha* sari *buluh* konsentrasi 30% sedangkan lebar zona hambat terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 100%. Lebar zona hambat ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran. Hasil pengukuran lebar zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya zona bening dalam uji serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh* terhadap bakteri *E. coli* yang telah dikurangi lebar sumuran (0,5 cm).



Gambar 4.6 Hasil Uji Pendahuluan Pengaruh Serial Konsentrasi Air *Kombucha Sari Buluh* terhadap Pertumbuhan Bakteri *E. coli*

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, maka ditentukan konsentrasi air *kombucha sari buluh* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* adalah pada konsentrasi 30% karena menunjukkan lebar zona hambat terkecil. Uji pendahuluan menunjukkan bahwa konsentrasi 30% menghasilkan hambatan terendah sehingga dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimal dari air *kombucha sari buluh* yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan konsentrasi sedikit dibawah dan diatas konsentrasi 30%.

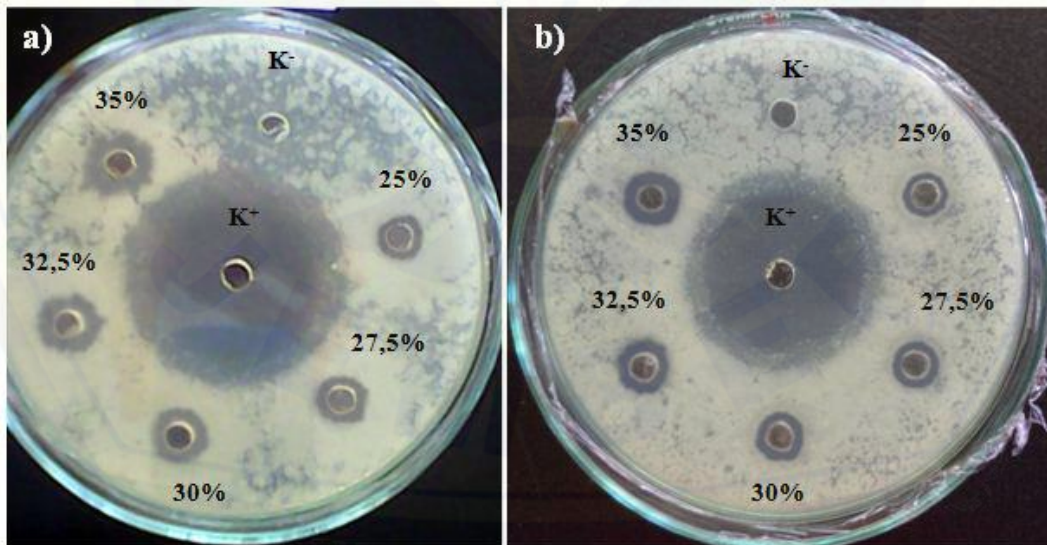
#### 4.1.6 Hasil Uji Akhir

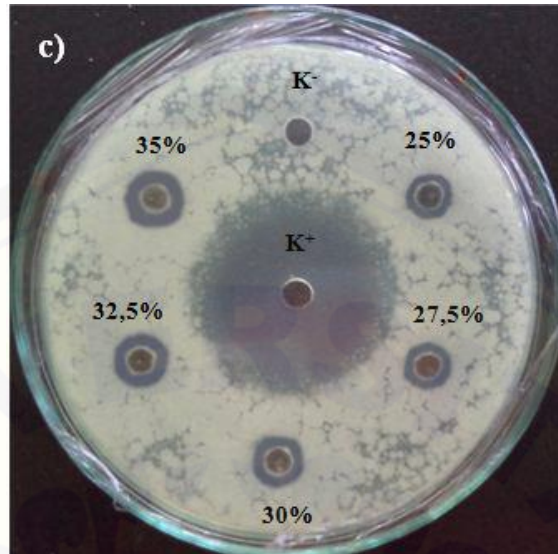
Berdasarkan uji pendahuluan, maka pada uji akhir ini menggunakan serial konsentrasi air *kombucha sari buluh* yaitu 25%; 27,5%; 30%; 32,5%; dan 35%. Pada uji akhir ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Uji akhir dilakukan untuk menjawab rumusan masalah yaitu ada tidaknya pengaruh air *kombucha sari belimbing wuluh* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan uji akhir yang telah dilakukan dengan mengujikan serial konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*, maka diperoleh lebar zona hambat seperti Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Lebar zona hambat serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan *E. coli* pada uji akhir

Perlakuan <i>kombucha</i> sari <i>buluh</i> (%)	Lebar Zona Hambat (cm)			Rerata (cm)
	1	2	3	
20	-	-	-	0
25	0,21	0,23	0,29	0,24
27,5	0,29	0,29	0,32	0,3
30	0,32	0,32	0,38	0,34
32,5	0,36	0,38	0,41	0,38
35	0,4	0,42	0,45	0,42
K+ (kloramfenikol 1%)	3,01	2,98	2,96	2,9
K- (akuades)	0	0	0	0

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan bahwa daya hambat air *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan *E. coli* berada pada konsentrasi terendah 25% dengan rerata lebar zona hambat sebesar 0,24 cm sampai konsentrasi tertinggi 35% dengan rerata lebar zona hambat sebesar 0,42 cm. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 25% merupakan daya hambat terendah dari air *kombucha* sari *buluh* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* karena air *kombucha* *buluh* dalam konsentrasi 20% tidak menunjukkan zona bening disekitar sumuran pada uji pendahuluan. Lebar zona hambat ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar sumuran seperti pada Gambar 4.7.





Gambar 4.7 Lebar zona hambat yang ditunjukkan dengan zona bening di sekitar sumuran. a) cawan 1; b) cawan 2; c) cawan 3 (sumber: koleksi pribadi).

Adanya zona bening di sekitar sumuran menunjukkan bahwa adanya penurunan jumlah sel bakteri yang tumbuh pada medium karena aktivitas senyawa air *kombucha* sari *buluh*. Pernyataan tersebut dapat diperkuat dengan analisis data menggunakan uji ANOVA dengan hasil seperti pada Tabel 4.5.

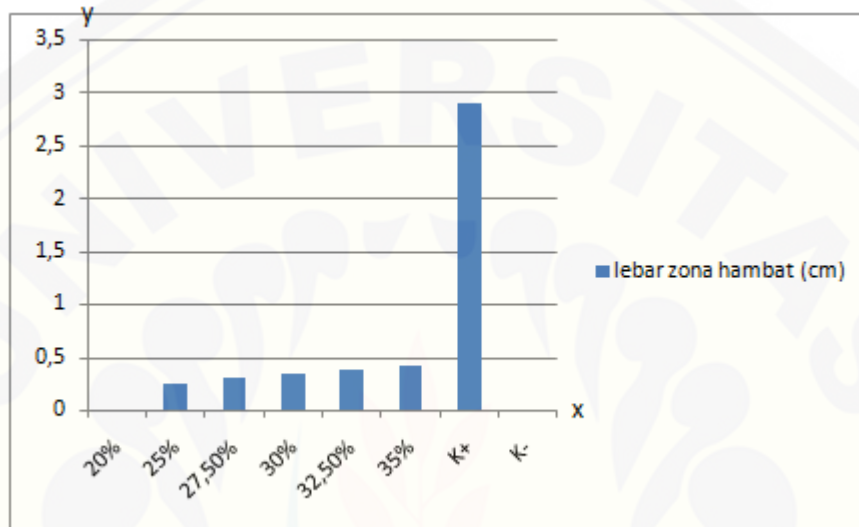
Tabel 4.6 Hasil Uji Anova Lebar Zona Hambat

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.114	6	3.186	4344.026	.000
Within Groups	.010	14	.001		
Total	19.124	20			

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

konsentrasi 35% dapat direkomendasikan untuk pengobatan diare. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran B.2, halaman 73.

Pengaruh serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan *E. coli* lebih jelas dilihat dalam grafik pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Grafik Lebar Zona Hambat Tiap Serial Konsentrasi Air *Kombucha* Sari *Buluh* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*.

Berdasarkan Gambar 4.7 dapat dilihat bahwa grafik serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh* memiliki daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*, hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambatan mulai dari konsentrasi terendah yaitu 25% sampai konsentrasi tertinggi 35%. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka akan semakin lebar zona hambat yang terbentuk. Pada konsentrasi 25% ditemukan zona bening disekitar sumuran dengan lebar 0,24 cm sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi 25% merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

#### 4.2 Hasil Uji Validasi Buku Non-teks

Uji validasi buku non-teks dilakukan pada 4 validator yang terdiri dari 2 validator berasal dari Dosen Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Universitas Jember dan 2 validator berasal dari masyarakat umum yang masing-masing terdiri dari guru SKMN 5 Jember dan pengusaha nata di Perumahan Muktisari Tegal Besar Jember. Pemilihan validator eksternal dipilih untuk penyempurnaan buku non-teks dalam hal materi dan tata bahasa karena validator yang dipilih mempunyai keahlian dalam bidang mikroorganisme dan pemilihan bahasa agar mudah dipahami masyarakat luas. Adapun hasil uji validasi buku non-teks yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil Uji Validasi Buku Non-Teks

Responden	Rerata skor	Nilai Validasi (%)	Keputusan
Dosen Biologi 1 ahli media	3,2	80,2	Valid (layak)
Dosen Biologi 2 ahli materi	3,5	88	Valid (layak)
Guru SMKN 5 Jember	3,8	96	Valid (layak)
Pengusaha nata	3,8	96	Valid (layak)
<b>Rata-rata</b>	<b>14,3</b>	<b>90</b>	Valid (layak)

Berdasarkan Tabel 4.7 nilai validasi tertinggi diperoleh dari guru SMKN 5 Jember dan pengusaha nata dengan jumlah yang sama sedangkan uji validasi terendah dari dosen FKIP Biologi UNEJ ahli media. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran C, halaman 79. Dari keempat validator tersebut, diperoleh rerata skor 14,3 dengan presentase rerata nilai validasi sebesar 90% sehingga dapat disimpulkan bahwa buku non-teks ini dinyatakan layak untuk digunakan sebagai buku pengayaan pengetahuan yang bersifat buku bacaan umum.

### 4.3 Pembahasan

Berikut adalah pembahasan dari hasil penelitian yang telah dilakukan.

#### 4.3.1 Hasil Pengamatan Morfologi Buah Belimbing Wuluh, Identifikasi Starter Kombucha, Karakterisasi Bakteri *E. coli* dan Kurva Pertumbuhan Bakteri *E. coli*

Starter *kombucha* yang digunakan dalam penelitian didapat dari Perumahan Muktisari Tegal Besar Jember. Starter *kombucha* berupa air *kombucha* dengan medium teh dan lapisan tipis seperti film di permukaan cairan berupa nata. *Kombucha*

merupakan minuman hasil fermentasi dari starter *kombucha* berupa nata yang berasal dari simbiosis antara bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. yang mempunyai rasa manis keasam-asaman, menyegarkan dan mengandung sedikit alkohol (Darwindra, 2008).

Adapun buah belimbing wuluh yang digunakan sebagai medium tumbuh *kombucha* diperoleh dari pohon belimbing wuluh yang berada di Jalan Kalimantan 4 Kecamatan Sumbersari Jember. Penggunaan buah belimbing wuluh dalam satu pohon agar memiliki varietas yang sama. Buah belimbing wuluh yang digunakan berwarna hijau, berbentuk bulat lonjong, mengandung banyak air dan rasanya asam. Wijayakusuma dan Dalimartha (2006) menyatakan bahwa sari buah belimbing wuluh yaitu buahnya berbentuk bulat lonjong bersegi hingga seperti torpedo, panjangnya 4-10 cm. Warna buah ketika muda hijau dengan sisa kelopak bunga menempel pada ujungnya. Apabila buah sudah masak, maka buah berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya mengandung banyak air dan rasanya asam. Kulit buahnya berkilap dan tipis. Biji bentuknya bulat telur, gepeng.

Buah Belimbing wuluh telah dimanfaatkan dan dikonsumsi oleh banyak orang untuk obat tradisional maupun untuk bumbu masakan. Peneliti memanfaatkan buah belimbing wuluh sebagai media tumbuh mengharapkan agar adanya suatu inovasi lainnya khususnya penelitian yang dapat memanfaatkan limbah buah belimbing wuluh yang terbuang sia-sia menjadi suatu yang berguna.

Gula yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sumber nutrisi dari *kombucha* karena mengandung berbagai mineral yang dapat mendukung nutrisi untuk pertumbuhan dari mikroorganisme penyusun *kombucha*. Pemberian gula disini juga untuk menciptakan kondisi medium yang sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme penyusun *kombucha* sehingga nantinya didapatkan zat-zat hasil fermentasi secara optimal.

Berdasarkan pengamatan starter *kombucha* yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa starter *kombucha* tersebut terdiri dari air fermentasi dan lapisan tipis seperti film yang terdapat di permukaan air fermentasi berupa nata, tampak membran

yang liat, dan berbentuk lapisan (menyerupai bentuk tempatnya), berwarna kecoklatan yang bertekstur kenyal seperti karet, hidup dalam lingkungan nutrisi yang sesuai serta tumbuh terus menerus membentuk susunan lempengan berlapis. Nata ini merupakan hasil metabolisme sekunder dari aktivitas bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp.. Nata *kombucha* menjadi berbahaya untuk dikonsumsi karena dapat menyebabkan iritasi pada lambung (Greenwalt *et al*, 2006). Air *kombucha* sari *buluh* menghasilkan aroma asam dan bila diminum airnya akan terasa asam dengan sedikit beralkohol. Peningkatan kadar alkohol disebabkan karena selama proses fermentasi, khamir *Saccharomyces* sp. memproduksi alkohol secara anaerob kemudian alkohol menstimulasi pertumbuhan *Acetobacter* sp. untuk memproduksi asam asetat secara aerob sedangkan asam asetat akan menstimulasi pertumbuhan *Saccharomyces* sp. kemudian alkohol digunakan oleh bakteri *Acetobacter* sp. untuk pembentukan asam asetat sehingga menyebabkan kadar alkohol mengalami penurunan (Pratiwi, dkk., 2012).

Identifikasi morfologi mikroorganisme penyusun *kombucha* sari *buluh* dilakukan dengan pewarnaan gram dan diamati di bawah mikroskop selanjutnya terlihat morfologi bakteri yang berbentuk basil dan berwarna merah. Rezae *et al*. (2005) menyatakan bahwa bakteri *Acetobacter* sp. memiliki morfologi berbentuk basil dan akan tampak berwarna merah jika diamati di bawah mikroskop setelah terlebih dahulu dilakukan pewarnaan gram sehingga dari pernyataan tersebut dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut benar bakteri *Acetobacter* sp. dan tergolong bakteri gram negatif. Morfologi dari khamir *Saccharomyces* sp. yang diamati berwarna putih, bersel tunggal dan berbentuk bulat agak lonjong. Kusumaningtyas (2005) menyatakan bahwa khamir *Saccharomyces* sp. memiliki ciri bersel tunggal, berbentuk lonjong, pendek, memiliki tunas, dan berkembang biak dengan tunas sehingga dapat dikatakan bahwa khamir tersebut benar khamir *Saccharomyces* sp..

Minuman *kombucha* yang diujikan dalam penelitian ini merupakan medium tumbuh baru yang memanfaatkan limbah buah belimbing wuluh. Minuman *kombucha* sari *buluh* yang dibuat mempunyai komposisi 250 gr buah belimbing wuluh yang



berwarna hijau segar dan berbentuk bulat panjang yang diblender dan disaring ampasnya hingga menghasilkan 200 ml sari *buluh*, 20 gr gula, dan 20 ml starter *kombucha*. Minuman herbal *kombucha* sari *buluh* dapat disimpan hingga 14 hari agar menghasilkan rasa manis keasaman. Pemilihan penggunaan *kombucha* sari *buluh* untuk menghambat bakteri *E. coli* karena gula masih belum sempurna dioksidasi oleh dua organisme yang terdapat pada *kombucha* dan di umur 14 hari telah membentuk hasil metabolisme sekunder dari kedua organisme tersebut berupa serat nata. Minuman *kombucha* sari *buluh* dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* di umur 14 hari.

*Kombucha* sari *buluh* yang dihasilkan selama penelitian ini menunjukkan terbentuknya lembaran-lembaran tipis yang terdapat di permukaan air fermentasi. Lembaran-lembaran tipis akan nampak berwarna kecoklatan karena sumber nutrisi yang digunakan adalah gula pasir sehingga gula tersebut yang mengakibatkan warna nata menjadi coklat muda. *Kombucha* sari *buluh* menghasilkan nata yang lebih tebal daripada teh *kombucha* karena penggunaan gula pasir yang merupakan medium seramakan mikroorganisme *kombucha*. *Kombucha* yang menggunakan gula kelapa menghasilkan nata lebih tipis dan warna air fermentasi *kombucha* lebih pekat dibandingkan *kombucha* yang menggunakan gula pasir sebagai sumber nutrisinya (Rahmawati, 2013). Aktivitas antibakteri yang terdapat dalam *kombucha* sari *buluh* hampir sama, dimana menurut Sreeramulu (2000) menunjukkan bahwa pada *kombucha tea* dengan asam asetat menunjukkan zona hambatan pada bakteri *S. typhi* sebesar 0,2 cm sedangkan *kombucha* sari *buluh* menunjukkan zona hambatan pada bakteri *E. coli* sebesar 0,24 cm. Bakteri *S. typhi* dan *E. coli* merupakan bakteri golongan gram negatif.

Air *Kombucha* sari *buluh* memiliki warna awal hijau akan tetapi lama kelamaan menghasilkan warna yang lebih pekat dibandingkan dengan *kombucha* teh seperti pada Gambar 4.2, halaman 42. Aroma dari air *kombucha* sari *buluh* sendiri seperti aroma jus buah belimbing wuluh dan bila diminum air fermentasinya akan terasa manis keasaman. Air *kombucha* sari *buluh* dapat diminum pada hari ke-8

sampai 14 karena seperti yang dikatakan oleh Rinihapsari, dkk (2012) bahwa pada umur hari ke-8 sampai 14, gula masih belum tereduksi secara sempurna sehingga rasanya masih terasa manis keasaman. Lama fermentasi air *kombucha* sari *buluh* mengakibatkan aroma buah belimbing wuluh akan menghilang, rasa akan terasa lebih asam akibat fermentasi etanol oleh khamir mengalami penurunan dan nata akan membentuk beberapa lapisan di atasnya dengan bentuk sesuai wadahnya. Air *kombucha* sari *buluh* siap untuk dijadikan antibakteri pada hari ke-14.

Isolat bakteri *E. coli* diperoleh dari Laboratorium Sains Politeknik Negri Jember diidentifikasi terlebih dahulu morfologi maupun karakteristiknya dengan pewarnaan gram yang selanjutnya diamati di bawah mikroskop dan beberapa jenis uji biokimia. Hal ini dilakukan untuk memastikan kebenaran bakteri yang digunakan tersebut adalah bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengamatan Gambar 4.1 halaman 42, yang telah dilakukan terlihat mikroorganisme tersebut berwarna merah yang menandakan bakteri tersebut tergolong bakteri gram negatif dan berbentuk batang pendek. Warna merah yang terbentuk menandakan bakteri dapat melunturkan zat warna ungu dari kristal violet dan mengikat safranin. Anggraeni (2012) menyatakan bahwa bakteri *Escherichia coli* mempunyai karakteristik yaitu berbentuk batang pendek, bersifat gram negatif, tidak berflagel, dan tidak berspora.

Uji sifat biokimia juga sangat penting dilakukan untuk memperjelas genus maupun spesies yang diamati apakah benar spesies bakteri yang digunakan dalam penelitian. Berbagai jenis uji biokimia yang digunakan adalah uji nitrat, uji katalase, dan uji amonia. Uji nitrat menunjukkan warna merah yang menunjukkan terbentuknya nitrit. Breeds (1957) menyatakan bahwa *Escherichia coli* memiliki sifat biokimia yaitu jika diinokulasi pada medium glukosa, laktosa, dan sukrosa dapat melakukan fermentasi dengan membentuk asam dan gas. *Escherichia coli* juga dapat menghidrolisis amilum, pati, membentuk indol pada medium triptofan, dapat mereduksi nitrat, dan memfermentasi susu dengan menghasilkan asam. Reduksi nitrat terjadi pada kebanyakan bakteri anaerob fakultatif dengan menggunakan nitrit. Oksigen dapat menghambat reduksi nitrat sehingga dalam reaksi, O<sub>2</sub> dihabiskan

kemudian menggunakan nitrat pada bakteri anaerob (Suriawiria, 1985). Uji katalase menunjukkan adanya gelembung-gelembung yang menunjukkan hasil positif mengandung enzim katalase. Volk & Wheeler (1993) menyatakan bahwa bakteri-bakteri anaerob mati apabila terkena oksigen. Hal ini dikarenakan oleh ketiadaan zat pembentuk enzim katalase sehingga oksigen peroksida ( $H_2O_2$ ) meracuni bakteri itu sendiri. Enzim katalase bekerja dengan menguraikan  $H_2O$  menjadi molekul  $O_2$  dan  $H_2$ . Enzim katalase mempunyai kestabilan yang lebih rendah terhadap panas dibandingkan dengan suatu peroksidase. Uji pembentukan amonia dengan mengamati perubahan warna lakmus menjadi biru yang menunjukkan adanya amoniak dengan bau menyengat. Uji amonia digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroba menghidrolisis urea menjadi amonia. Enzim urease akan menguraikan urea menjadi amonia. Uji amonia menunjukkan hasil positif jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah keunguan. Hasil uji amonia negatif jika tidak terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah keunguan (Anonim, 2010).

Pengamatan kurva pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* bertujuan untuk mengetahui waktu pertumbuhan optimum dari bakteri *Escherichia coli* agar didapatkan hasil koloni bakteri yang maksimal dalam penelitian. Berdasarkan hasil yang didapat, bahwa pertumbuhan bakteri terdapat beberapa fase, yaitu 4 jam pertama bakteri berada pada fase lag yaitu penyesuaian sel bakteri untuk menyeimbangkan pertumbuhan terhadap lingkungan. Bakteri tidak langsung tumbuh dan membelah meskipun kondisi media sangat mendukung untuk pertumbuhan. Fase lag ditunjukkan pada umur bakteri 8 jam sampai 16 jam, yaitu fase pembelahan sel bakteri dengan laju yang konstan. Fase lag merupakan fase yang sangat penting dalam pertumbuhan bakteri. Fase lag atau disebut juga fase lamban, dimana pada fase ini tidak ada pertumbuhan populasi, sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukurannya, kemudian substansi intrasellular bertambah. Fase eksponensial menunjukkan pertumbuhan populasi meningkat dua kali pada interval waktu yang teratur yaitu pada umur 20 sampai umur 28 jam sehingga pemberian antibakteri *kombucha* sari *buluh* dilakukan pada bakteri *E. coli* yang telah diinkubasi

selama 24 jam. Pada fase ini sel membelah dengan laju konstan, jumlah koloni bakteri akan terus bertambah seiring lajunya aktivitas metabolisme sel. Fase ini terjadi pada pengamatan 24 jam yang terlihat pertumbuhan optimum bakteri. Tidak terdapat fase statis dari hasil penelitian ini. Fase kematian ditunjukkan lebih cepat yaitu dari umur bakteri 32 jam - 48 jam yang ditunjukkan dengan sel bakteri yang mati lebih banyak daripada sel yang membelah di umur. Tidak adanya fase statis yang dihasilkan karena pengamatan dilakukan 4 jam sekali sehingga data yang diperoleh kurang maksimal. Perhitungan dengan mata telanjang juga mempengaruhi hasil yang kurang efektif. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang mungkin terjadi adalah faktor intrinsik seperti pH dan kandungan media NA dan faktor ekstrinsik seperti kelembaban, tekanan gas/keberadaan gas, juga cahaya dan pengaruh sinar ultraviolet.

#### ***4.3.2 Pengaruh Air Fermentasi Kombucha Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli***

Penelitian pengaruh *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi karena cukup sederhana dan efektif untuk mengetahui aktivitas antibakteri suatu sampel (Nufailah, dkk., 2008). Penelitian menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding dengan hasil tiap serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh*. Kontrol positif yang digunakan berupa kloramfenikol 1% dan kontrol negatif berupa akuades. Kloramfenikol dipilih karena kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki spektrum luas yang aktif terhadap bakteri baik bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Kloramfenikol biasanya juga merupakan antibiotik yang digunakan untuk menghambat bakteri penyebab penyakit diare, yaitu *Escherichia coli*. Mekanisme penghambatan yang dilakukan oleh kloramfenikol yaitu dengan cara mengganggu sintesis protein pada bakteri uji. Kloramfenikol akan terikat secara *reversible* pada tempat reseptor subunit 50S ribosom bakteri, obat ini akan mengganggu penggabungan asam amino ke peptida baru yang dibentuk dengan

menghambat kerja peptidil transferase (Katzung, 1997). Sumuran yang diisi kloramfenikol tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada media agar dan tidak ada pertumbuhan bakteri lain sehingga dapat disimpulkan tidak terjadi kontaminasi dan sesuai dengan teori yang ada. Kontrol negatif menggunakan akuades steril karena untuk membuat serial konsentrasi dari air *kombucha* sari *buluh* ditambahkan dengan akuades dalam pengencerannya, sehingga akuades diujikan untuk mengetahui apakah akuades dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* atau tidak dan hasilnya bahwa akuades tidak dapat menghambat bakteri *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya zona bening di sekitar sumuran dan tumbuhnya banyak bakteri di sekitar sumuran.

Uji pendahuluan menggunakan berbagai serial konsentrasi didapatkan hasil bahwa lebar zona hambat terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 100% dengan lebar hambatnya 0,72 cm dan zona hambat terendah ditunjukkan pada konsentrasi 30% dengan lebar hambatnya 0,17 cm. Penelitian menunjukkan hasil bahwa dengan pemberian air *kombucha* sari *buluh* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening sekitar sumuran yang telah diisi 25  $\mu$ l serial waktu fermentasi maupun serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh*. Semakin tinggi serial konsentrasi yang diberikan, maka jumlah zat terlarut dan senyawa maupun asam asetat yang terkandung dalam air *kombucha* sari *buluh* lebih banyak dibandingkan dengan serial konsentrasi yang lebih rendah. Semakin tinggi konsentrasi air *kombucha* sari *buluh*, maka semakin tinggi pula kandungan senyawa yang ada di dalamnya sehingga mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* pada media NA yang ditunjukkan dengan terdapatnya zona hambat.

Penggunaan air *kombucha* sari *buluh* yaitu pada umur 14 hari. Hal tersebut dikarenakan gula yang terdapat didalamnya masih belum terurai sempurna sehingga rasa masih manis keasaman. Semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan, maka menyebabkan semakin habisnya sumber karbon yang ada dalam *kombucha* sari *buluh* karena diuraikan oleh bakteri *Acetobacter* sp. dan khamir *Saccharomyces* sp. menjadi

etanol kemudian dirubah menjadi asam asetat sehingga meningkatkan tingkat keasaman dari *kombucha* sari *buluh* semakin tinggi (Kadir, 2003).

Bakteri *E. coli* dapat mati dalam lingkungan asam dengan pH 2. pH *kombucha* sari belimbing wuluh yang digunakan adalah 3 sehingga dapat membunuh bakteri *E. coli* lebih maksimal. Besar pH *kombucha* sari *buluh* tergantung pada beberapa faktor seperti jumlah belimbing wuluh dan usia buah belimbing wuluh. *Kombucha* sari *buluh* terasa manis karena diberi gula dan dalam proses fermentasi banyak terjadi perubahan struktur kimia yang lebih sederhana. Senyawa-senyawa fruktosa akan menjadi glukosa karena adanya aktivitas dari dua mikroorganisme dari *kombucha* sari *buluh* itu sendiri, yaitu *Acetobacter* sp. dan *Saccharomyces* sp.. Fermentasi *kombucha* sari *buluh* juga menghasilkan alkohol yaitu golongan metanol yang bisa bersifat antibiotik. Khasiat antibiotik dari sifat metanol *kombucha* sari *buluh* lebih efektif dalam menghambat maupun mematikan bakteri *E. coli*.

Rasa asam buah belimbing wuluh akan menurun dalam proses fermentasi karena terbentuknya glukosa oleh aktivitas *Acetobacter* sp. dan *Saccharomyces* sp. sehingga dapat dikatakan bahwa *kombucha* sari *buluh* lebih efektif menghambat bakteri *E. coli* daripada air perasan buah belimbing wuluh. Hal ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa air perasan belimbing wuluh pada konsentrasi terendah yaitu 60% dapat menghambat bakteri *Shigella dysentrie*. Perasan buah belimbing wuluh hanya memiliki kandungan asam dari asam sitrat dan asam karbonat. *Kombucha* sari *buluh* digunakan untuk meningkatkan efisiensi dalam penggunaan buah belimbing wuluh dan lebih mengefisiensi untuk menghambat pertumbuhan *E. coli*.

*Kombucha* sari buah belimbing wuluh saat fermentasi menghasilkan berbagai enzim, asam asetat, asam karbonat, asam folat, asam glukonat, asam glukoronat, asam laktat, berbagai asam amino, fruktosa, karbon dioksida, dan sejumlah kecil alkohol (0,5-1 %), vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin, niasina mide), vitamin B6 (*pyridoxine*), vitamin B12 (kobalamin, sianokobalamin), vitamin C (dari asam laktat). Hal ini karena telah terjadi perombakan dari senyawa kompleks

menjadi senyawa yang lebih sederhana akibat aktivitas *Acetobacter* sp. dan *Saccharomyces* sp..

Kandungan kimia buah belimbing wuluh saat fermentasi *kombucha* sari *buluh* masih tetap ada dan tidak dapat terurai akibat fermentasi. Fermentasi hanya menguraikan senyawa dari starter *kombucha* yang telah diberi karena bakteri dan khamir *kombucha* tidak mampu untuk memecah golongan alkaloid dari buah belimbing wuluh tersebut karena senyawa yang terkandung terlalu besar untuk diuraikan dan dapat dikatakan komposisi senyawa alkaloid tetap. Buah belimbing wuluh sendiri diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri (Rahayu, 2013). Zakaria *et al* (2007) memperkirakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam buah belimbing wuluh adalah tipe luteolin dan apigenin. Senyawa kimia yang dominan terbentuk pada *kombucha* sari *buluh* adalah asam asetat yang diklasifikasikan sebagai asam lemah karena ketika dilarutkan ke dalam larutan cair, komponen didalamnya tidak seluruhnya terurai. Mekanisme penghambatan asam asetat terhadap pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara menembus membran sel bakteri. Semakin banyak ion  $H^+$  asam asetat yang masuk maka bentuk tidak terurai dari asam asetat akan larut dalam lemak sehingga dapat menembus membran sel bakteri. Sel akan memompa kelebihan  $H^+$  tetapi lama kelamaan akan menjadi semakin tidak efektif sehingga pH internal dalam sel bakteri menurun dan menyebabkan aktivitas enzim dan asam nukleat dalam sel bakteri akan terganggu dan akhirnya sel bakteri menjadi mati (Marlis, 2004). Senyawa flavonoid pada buah belimbing wuluh merupakan senyawa aktif yang berfungsi untuk mengganggu sintesis dinding bakteri sehingga terjadi kebocoran plasma yang diakhiri dengan lisisnya bakteri dan juga berfungsi untuk menghambat DNA gyrase dan menghambat aktivitas enzim ATPase bakteri. Flavonoid pada belimbing wuluh juga merupakan golongan terbesar senyawa fenol. Adisoemarto (1998) menjelaskan bahwa golongan fenol mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein pada bakteri sehingga dinding sel bakteri akan mengalami kerusakan karena terjadinya penurunan permeabilitas yang

memungkinkan terganggunya transport ion-ion organik penting yang kan masuk ke sel bakteri. Senyawa alkaloid pada buah belimbing wuluh bekerja sebagai DNA interkalator dan penghambat sintesis DNA dengan cara menghambat topoisomerase. Saponin dan steroid pada belimbing wuluh berfungsi sebagai perusak protein bakteri *E. coli* dengan cara berinteraksi yang nonspesifik dengan protein bakteri. Saponin juga dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis. Triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2004).

Kandungan kimia (fitokimia) buah belimbing wuluh pada *kombucha* sari *buluh* selama waktu fermentasi yang berlangsung tetap ada dikarenakan pada fermentasi *kombucha* sari *buluh* pada hari ke-14 menunjukkan adanya zona hambat pada bakteri *E. coli* yang cukup besar pada konsentrasi 25% sehingga dapat dikatakan pada waktu fermentasi tersebut, baik kandungan buah belimbing wuluh maupun asam asetat dari *kombucha* telah terbentuk dan dapat bersifat menghambat pertumbuhan bakteri seperti bakteri *E. coli*. Penggunaan *kombucha* sari *buluh* dalam penelitian ini diharapkan akan adanya produksi secara industrial yang dapat disebarluaskan kepada masyarakat luas sehingga nantinya bisa dipasarkan dan jika dibutuhkan sewaktu-waktu bisa siap dikonsumsi. Penyimpanan bisa dimasukkan ke dalam kulkas dengan suhu dibawah 0°C untuk menghentikan proses fermentasi untuk sementara akan tetapi tidak dianjurkan untuk dilakukan penyimpanan lebih dari 14 hari karena dapat merubah komposisi senyawa yang terkandung di dalam *kombucha* sari *buluh* itu sendiri.

Air *kombucha* sari *buluh* memiliki senyawa kimia yang berpotensi sebagai bahan antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare. Diare adalah sebuah penyakit dimana penderita mengalami buang air besar yang sering dan masih memiliki kandungan air berlebihan (Sastry dan Rao, 1994). Menurut Muschler (1991) penderita diare banyak menggunakan obat-obatan yang berasal dari bahan kimia dan tanaman herbal akan tetapi peneliti memberikan suatu



inovasi baru yaitu *kombucha sari buluh* yang merupakan minuman herbal obat diare dengan rasa manis keasaman. Minuman ini tidak dapat diminum sehari-hari akan tetapi dapat diminum untuk menanggulangi penyakit diare akibat bakteri *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz *et al*, 1995). Beberapa penderita diare biasanya tidak boleh mengkonsumsi makanan dan minuman yang terlalu asam sehingga untuk menanggulangi hal demikian, maka pengkonsumsian *kombucha sari buluh* dilakukan dengan meminum hanya 1-2 sendok teh air *kombucha sari buluh* yang telah dibuat dicampur dengan air putih sebanyak setengah gelas. Jika rasa dari air *kombucha sari buluh* masih dianggap terlalu asam maka diperbolehkan untuk menambahkan sedikit air dalam pengkonsumsian. Hal ini karena menurut penelitian yang telah dilakukan, dalam pengenceran air *kombucha sari buluh* dengan akuades berkonsentrasi 25% masih mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambatan sebesar 0,24 cm. Tidak disarankan untuk penambahan zat lain terhadap *kombucha* seperti susu, pemanis, zat perasa dalam pengkonsumsian *kombucha sari buluh* karena dikhawatirkan dengan penambahan zat-zat tersebut dapat memiliki efek negatif terhadap tubuh. Nata *kombucha sari buluh* yang dihasilkan tidak dapat dikonsumsi langsung karena dapat menyebabkan iritasi pada lambung (Greenwalt *et al*, 2006).

#### **4.3.3 KHM Air Fermentasi Kombucha Sari Buah Belimbing Wuluh terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli***

Serial konsentrasi yang digunakan dalam menentukan KHM air *kombucha sari buah belimbing wuluh* terhadap bakteri *E. coli* dalam uji akhir adalah 25%; 27,5%; 30%, 32,5% dan 35% dengan pengulangan 3 kali. Data ini akan dianalisis dengan uji ANOVA dan dirumuskan bahwa adanya pengaruh air *kombucha sari belimbing wuluh* terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* antar perlakuan

masing-masing konsentrasi. Hasil uji ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan rerata lebar zona hambat 0,24 cm karena pada konsentrasi 20% sudah tidak terdapat zona hambat dan konsentrasi tertinggi 35% dapat menghambat bakteri *E. coli* dengan rerata lebar zona hambat 0,42 cm.

Hasil uji ANOVA menyatakan bahwa nilai probabilitas signifikansi sebesar 0,00 oleh karena itu nilai probabilitas  $< 0,05$  yang menyatakan bahwa terdapat pengaruh serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan *E. coli* yang signifikan tidak berbeda nyata antar masing-masing konsentrasi dan dengan demikian, maka dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc test* dengan BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi mana yang paling efektif terdapat pengaruh perbedaan antar konsentrasi air *kombucha* sari *buluh* terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan sebagai acuan dalam menentukan perlakuan yang paling efektif terhadap antar perlakuan. Hasil uji BNT menyatakan bahwa pada konsentrasi 35% mempunyai daya hambat paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang berbeda nyata/ berbeda signifikan terhadap semua serial konsentrasi air *kombucha* sari *buluh*.

#### **4.3.4 Penyusunan Buku Non-teks dari Hasil Penelitian Eksperimental**

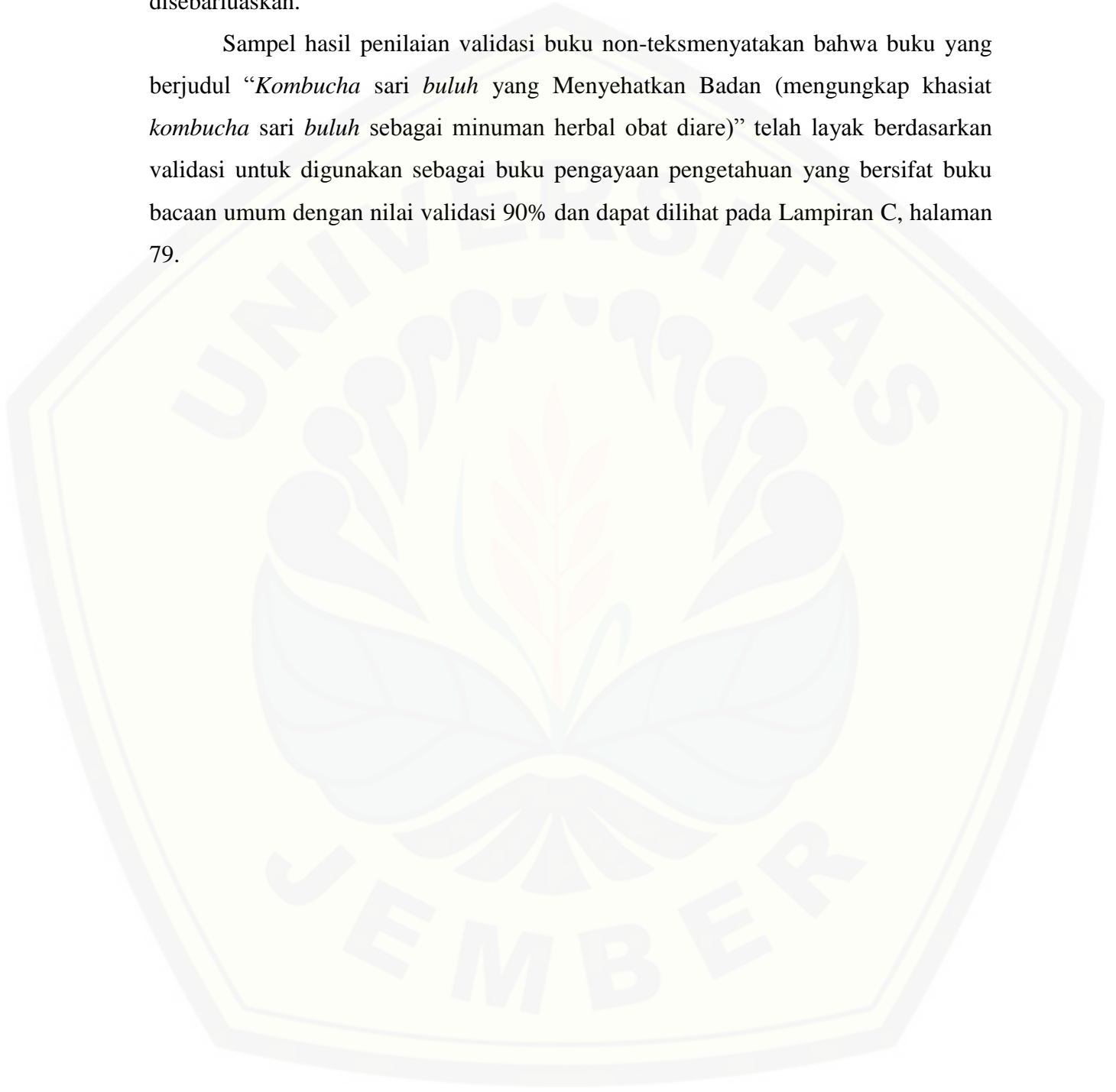
Hasil penelitian tentang pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli* dimanfaatkan dalam penyusunan buku non-teks yang berjudul “*Kombucha* sari *buluh* yang Menyehatkan Badan (mengungkap khasiat *kombucha* sari *buluh* sebagai minuman herbal obat diare)”. Untuk mengetahui kelayakan buku non-tekstersebut, maka dilakukan uji validasi pada 4 validator yang terdiri dari 2 validator berasal dari Dosen Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Program Studi Biologi dan 2 validator berasal dari masyarakat umum yang masing-masing terdiri dari guru SMKN 5 Jember dan pengusaha nata di Perumahan Muktisari Tegal Besar Jember. Berdasarkan hasil uji validasi buku karya ilmiah populer, dapat diketahui bahwa rerata skor tertinggi diperoleh dari guru SMKN 5 dan

pengusaha nata dengan jumlah yang sama yaitu 3,8 dengan nilai validasi 96% sedangkan rerata skor terendah diperoleh dari dosen FKIP Biologi UNEJ ahli media pembelajaran yaitu 3,2 dengan nilai validasi 80,2%.

Penilaian buku non-teks tidak hanya berdasarkan kriteria-kriteria buku non-teks yang mengacu pada rubrik penilaian akan tetapi, keempat validator juga memberikan komentar dan masukan tentang buku yang telah dibuat. Validator dari dosen menyatakan bahwa untuk keseluruhan buku tersebut telah memenuhi persyaratan dasar sebagai buku pengayaan pengetahuan yang bersifat sebagai buku bacaan, namun demikian perlu adanya beberapa revisi ringan pada buku tersebut yang meliputi ilustrasi gambar yang disesuaikan, penulisan arus sesuai kaidah yang berlaku, format tulisan yang disesuaikan, isi materi yang harus lebih dalam lagi, pada langkah kerja yang harus diberi suatu nomor dari kalimat pada cara kerja agar mudah dipahami pembaca dan penataan, komposisi serta skala gambar pada sampul yang sebaiknya lebih diproporsionalkan. Validator dari guru SMKN 5 Jember menyatakan bahwa buku non-teks yang telah dibuat sangat menarik terlihat dari judul, isi, dan covernya sehingga masyarakat umum pasti cukup tertarik ketika awal melihat bukunya namun demikian, guru tersebut memberikan masukan agar menambahkan daftar uji klinis diare dalam hal hubungannya dengan bakteri *Esherichia coli*. Pengusaha nata di Perumahan Mukisari Tegal Besar Jember menyatakan bahwa buku non-teks yang telah dibuat sangat menarik untuk dibaca karena jarang sekali orang mengetahui tentang minuman herbal *kombucha* sehingga perlu sekali untuk disebarluaskan agar memberi tambahan IPTEK bagi kesejahteraan bangsa namun demikian, pengusaha nata tersebut memberikan masukan untuk perlu adanya penyempurnaan berupa sesuatu yang pasti yakni berupa petunjuk pembuatan obat herbal dengan takaran dan penggunaan yang tepat, waktu penggunaan pada berbagai umur serta langkah pembuatan yang lebih jelas. Berdasarkan komentar dan masukan dari keempat validator maka dapat diketahui bahwa buku non-teks telah layak berdasarkan validasi untuk digunakan sebagai buku pengayaan pengetahuan dengan

beberapa masukan yang harus direvisi oleh penyusun yang selanjutnya data disebarluaskan.

Sampel hasil penilaian validasi buku non-teksmenyatakan bahwa buku yang berjudul “*Kombucha sari buluh yang Menyehatkan Badan (mengungkap khasiat kombucha sari buluh sebagai minuman herbal obat diare)*” telah layak berdasarkan validasi untuk digunakan sebagai buku pengayaan pengetahuan yang bersifat buku bacaan umum dengan nilai validasi 90% dan dapat dilihat pada Lampiran C, halaman 79.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Adanya pengaruh air *kombucha* sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang signifikan tidak berbeda nyata antar masing-masing konsentrasi. Konsentrasi 35% mempunyai daya hambat paling efektif terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang signifikan berbeda nyata terhadap semua serial konsentrasi air *kombucha* sari buluh.
- b. Air *kombucha* sari buluh mempunyai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 25% dengan rerata diameter zona hambat yaitu 0,24 cm.
- c. Buku non-teks dengan judul “*Kombucha* sari buluh yang Menyehatkan Badan (mengungkap khasiat kombucha sari buluh sebagai minuman herbal obat diare)” layak berdasarkan hasil validasi untuk dijadikan sebagai buku non-teks dengan rata-rata nilai validasi sebesar 90% dan rerata skor 14,3.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka terdapat beberapa saran, diantaranya:

- a. Perlu dilakukan uji antibakteri air *kombucha* sari buluh dengan jenis bakteri lainnya yang berbeda.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk konsentrasi air *kombucha* sari buluh 20% sampai 25% terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.
- c. Perlu dilakukan penelitian lanjut mengenai manfaat air *kombucha* sari buluh selain sebagai antibakteri, uji isolat zat aktif air *kombucha* sari buluh sebagai antibakteri, dan uji KLT untuk mengetahui kevalidan senyawa antibakteri pada air *kombucha* sari buluh.

- d. Perlu dilakukan penilaian lebih lanjut terhadap buku non-teks yang dibuat agar selanjutnya bisa diterbitkan oleh penerbit nasional.



**DAFTAR BACAAN**

- Anonim. 2010. *Salmonella*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Salmonella>. (Diakses tanggal 17 Juni 2015).
- Adiawati, P dan Kusnadi. 2003. *Kultur Campuran dan Faktor Lingkungan Mikroorganisme yang berperan dalam Fermentasi Tea-cider*. Bandung: ITB.
- Ajizah, A. 2004. *Sensitivitas Samonella thypi terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava*. Bioscientiac. Vol.1, No.1: 31-38.
- Anggraeni, M. D., 2008. *Uji Disinfeksi Bakteri Escherichia coli menggunakan Kavitasi Water Jet*. Depok: UI.
- Arsenius. 2012. *Kombucha Kadaluarsa*. <http://indokombucha.kombucha.com>. [15 Januari 2015]
- As'ari, Hasyim. 2011. *Pengaruh Kombucha Tea terhadap Pertumbuhan Aspergillus flavus*. Jember: Universitas Jember.
- Assani, S. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Breed, R.S, E.G.D., Murray, U.R., Smith, 1957, *Bergey`s Manual Determination of Bacteriology*, seventh edition, The Wiliams and Wilkins Company, USA.
- Buckle, KA, RA. Edward, G. H. Fleet dan M. Wooton. 2000. *Ilmu Pangan*. Penerjemah H. Purnomo dan Adiono. Jakarta : UI Press.
- Candra, Stefani. 2008. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang dinduksi Aloksan*. Semarang: UNDIP.
- Colon, B., Taylor, dan Willis, J. 2009. *Konstruktivis Instructional Design (C-ID): Yayasan, Model, dan Contoh*. Charlotte: Era Informasi Publishing.

- Darwindra, Haris Dianto, 2008. *Kombucha tea*. <http://cari-pdf.com/download/index.php?name=teh%20kombucha&file=harisdianto.files.wordpress.com/2001/01/kombucha>. [15 Oktober 2014].
- Dewi, dkk. 2013. *Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol dengan Sediaan Sirup Herbal Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L.) terhadap Pertumbuhan Shigella dysenteriae In Vitro*. Jurnal Berkala Kedokteran. Vol. 9 No. 2 Sep 2013: 191-198.
- Driscoll, M. 2005. *Psikologi Belajar untuk Instruksi*. Ontario: Pearson Education.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan*. Citra Aditya Bakti: Bandung.
- Fitriani, Shanti. 2008. *Pengaruh Suhu dan Lama Pengeringan terhadap Beberapa Mutu Manisan Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L.) kering*. Universitas Riau: Riau.
- Frank G. W. 1996. *Kombucha Healthy Beverages and Natural Remedy From the Far East*. Publishing W. Eenstaler Cosp Germany.
- Hariana, H. A., 2004. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Karyatina, M dan Suhartatik, N. 2008. *Kombucha dengan Variasi Kadar Gula Kelapa sebagai Sumber Karbon*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol XIX No. 2 tahun 2008.
- Katzung, Betram G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Kusnadi, dkk. 2003. *Mikrobiologi (Common Teksbook)*. Biologi FPMIPA UPI: IMSTEP.



- Kusuma. 2010. *Isolat Lokal Saccharomyces cerevisiae sebagai iokompetitor Aspergillus flavus*. (online). (<http://bbalitvet.litbang.deptan.go.id>).
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo. Persada.
- Lisa, Y. 2009. *Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Mutu Kombucha Sari Nanas (Ananas comosus)*. Universitas Andalas.
- Marcus, E. B., Daniel, R. D., Ming-Ju Huang, James, J. K., Emil, P., Nicholas, B.. 1991. Application Of Semiempirical Molecular Orbital Techniques To The Study Of Peroxidase Mediated Oxidation Of Phenols, Anilines, Sulfides And Thiobenzamides. 47 : 7525 – 7536.
- Muhlisah, F. 2007. *Tanaman Obat Keluarga (Toga)*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Muscthler, 1991. *Dinamika Obat*. Terjemahan M. B. Widiyanto dan A.S Ranti. Penerbit ITB. Bandung.
- Naland, Henry. 2004. *Kombucha Teh Ajaib Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Naland, Henry. 2008. *Kombucha Teh dengan Seribu Khasiat*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Pelczar & Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*. Jakarta: UI Press.
- Permadiningtyas, S. 2011. *Karakteristik Fisik, Kimia, dan Organoleptik Kombucha Salak (Sallaca zallaca) sebagai Pengaruh dari Umur Kultur Kombucha dan Lama Fermentasi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Pratiwi S.I., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Rahayu, Puji. 2013. *Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L.) terhadap Pertumbuhan Candida Albicans*. UNHAS: Makasar.

- Rahmawati, A. 2009. *Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia)*[Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Ramansyah, Wanda. 2013. Pengembangan Bahan Ajar Mata Kuliah Strategi Pembelajaran untuk Mahasiswa Pendidikan Guru Sekolah Dasar. *Widyagogik*, Vol.1, No.1, Januari-Juni 2013, 17-27.
- Rezae, et. Al. 2005. *Biologic Management of Fistulzing Chron Disease. J. Pharmacol* 17-24.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung : ITB.
- Salisbury, F.B., dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 1 Terjemahan Diah R. Lukman dan Sunaryo. Bandung : ITB.
- Schegel, G.H. 1993. *General Microbiologi seventh edition*. Cambrige University Press, USA.
- Setiawan, I. 2012. Pengaruh Pemberian *Kombucha* Teh terhadap Kadar Asam Urat Serum Darah Rattus norvegicus. *UNESA Journal of Chemistry*. Vol. 1 No.1 May 2012.
- Shanti. 2002. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Anti Mikroba dari Daun Tumbuhan Piper sarmentosum*. Ex Hunter (online), (<http://shanti1629.mikroba.com>).
- Steenis, Van. 1997. *Flora Untuk Sekolah Di Indonesia*. Jakarta : PT Pradnya Paramita.
- Sugiarti, W. 2009. *Pengaruh Konsentrasi Starter Lama Fermentasi terhadap Kualitas Kombucha Belimbing Wuluh (Averhoa blimbi L.)*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Supardi. 2007. *Model- Model Pengembangan Bahan Ajar*. Yudistira: Jakarta.
- Suprpti, M L., 2003. *Teh Jamsi dan Manisan Nata*. Yogyakarta : Kanisius.

- Suriawiria, U. 1985. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Angkasa. Bandung.
- Suriwaria. 1997. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa.
- Sutarmi, M. 2005. *Pengembangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hijau dan Teh Olong*. Bogor: IPB.
- Tjitrosoepomo, G., 2000. *Taksonomi Tumbuhan Spermathophyta*. Cetakan ke-9, UGM Press: Yogyakarta.
- Volk dan Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar*, Edisi Kelima, Jilid 2. Alih Bahasa: Markham, M.Sc. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Volk, W.A. and M.F. Wheeler. (1993). *Basic Microbiology, 5<sup>th</sup> Edition*. (Mikrobiologi Dasar, Edisi Kelima diterjemahkan oleh Soenarto Adisoemarto). Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Waji, Regi Agistia. 2009. *Makalah Kimia Flavonoid (Quercetin)*. Makasar : Universitas Hasanudin.
- Walker, J. 1992. *Analyses of the Volatiles in The Seed Oil of Hibiscus saldariffa (Malvaceal) by Means of GC-MS and GC-FTIR*. Austria: University of Vienna.
- Waluyo, J & Wahyuni. 2013. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: FKIP Biologi UNEJ.
- Winarno, F. G., s. Fardiaz., D. Fardiaz. 1984. *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta: PT Gramedia.
- Zakaria, Z.A., Zaiton, H., Henie, E.F.P., Jais, A. M.M., and Zainuddin, E.N.H., 2007, *In Vitro Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi L. Leaves and Fruits Extracts*, International Journal of Tropical Medicine, (Online), 2(3):96-100, (<http://www.medwelljournals.com/>).

MATRIK PENELITIAN

Judul	Latar Belakang	Rumusan Masalah	Tujuan	Variabel	Indikator	Metode Penelitian
<p>Pengaruh <i>Kombucha</i> Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa blimbi</i> L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i> serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks</p>	<p><i>Kombucha</i> merupakan minuman hasil fermentasi dari starter <i>kombucha</i> berupa nata yang berasal dari simbiosis antara bakteri <i>Acetobacter</i> sp. dan khamir <i>Sacharomyces</i> sp. dengan medium yang digunakan untuk membuat minuman sehari-hari seperti teh, kopi, dan rosella (Darwindra, 2008). <i>Kombucha</i> biasanya ditumbuhkan dalam medium the dan kopi. Alasan pemanfaatan buah belimbing wuluh untuk bahan baku membuat <i>kombucha</i> adalah karena buah belimbing wuluh memiliki kandungan kimiawi kompleks daripada kandungan pada teh, sehingga dihasilkan minuman sehat dari <i>kombucha</i> yang lebih berguna (Sugiarti, 2009).</p> <p>Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman buah asli Indonesia dan daratan Malaya yang banyak ditemui sebagai tanaman pekarangan yang mudah ditanam dan tidak memerlukan perawatan khusus sehingga kemampuannya dalam menghasilkan buah sepanjang tahun yang mengakibatkan buah ini terbuang sia-sia (Tohir, 1981).</p> <p>Rahayu (2013) menyatakan, dari hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak kental methanol buah belimbing wuluh diketahui positif mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen saponin, terpenoid dan minyak atsiri. Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenol, dimana senyawa fenol dapat bersifat anti fungi dan antibakteri. Senyawa flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotic dengan mengganggu fungsi</p>	<p>a. Adakah pengaruh air <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>b. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) air <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>c. Bagaimanakah hasil penelitian “Pengaruh <i>Kombucha</i> Sari Buah Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa blimbi</i> L.) terhadap Pertumbuhan</p>	<p>a. Menganalisis adanya pengaruh fermentasi <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>b. Menentukan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) air <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>.</p> <p>c. Menyusun buku nonteks berdasarkan hasil penelitian “Pengaruh Konsentrasi <i>Kombucha</i> Sari</p>	<p>a. Variabel bebas: air <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa blimbi</i> L.) dalam berbagai serial konsentrasi.</p> <p>b. Variabel terikat: penghambatan pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat.</p> <p>c. Variabel kontrol: suhu inkubasi, jenis</p>	<p>- Serial konsentrasi air <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh (<i>Averrhoa blimbi</i> L.)</p> <p>- Lebar zona hambat berupa zona bening pada medium agar</p>	<p>Data diameter zona hambat dianalisis dengan uji statistic <i>One-Way</i> (ANOVA) dengan derajat kepercayaan 95% (<math>p &lt; 0,05</math>) untuk mengetahui adanya pengaruh air <i>kombucha</i> sari buah belimbing wuluh terhadap pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i>. Analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jika hasil anova</p>

mikroorganisme seperti bakteri atau virus (Waji, 2009).

Beberapa senyawa yang terkandung dalam sari buah belimbing wuluh tersebut bila dikombinasikan dengan asam asetat yang terdapat pada *kombucha* diharapkan saling bersinergi dan bersifat sebagai antibakteri. Buah belimbing wuluh bermanfaat bagi masyarakat terutama dalam pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri seperti diare (Suriana & Shobarani, 2007).

Bakteri *Escherichia coli* menjadi pathogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, saluran kemih, saluran empedu, paru-paru peritoneum dan selaput otak yang menyebabkan *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare akut (Winarno, 2008).

Salah satu antibakteri dapat digunakan adalah *kombucha* yang memanfaatkan pengolahan buah belimbing wuluh sebagai mediumnya untuk menanggulangi diare oleh bakteri *E. coli*. Antibakteri tersebut perlu untuk diketahui oleh masyarakat luas agar mereka bisa menggunakannya sebagai pengetahuan baru yang bermanfaat untuk kehidupan sehari-hari. Dari pernyataan tersebut, peneliti perlu untuk membuat buku non-teks yang bahasanya bisan mudah dipahami dan mudah diakses oleh masyarakat luas.

Bakteri  
*Escherichia coli*”  
digunakan untuk  
penyusunan buku  
non-teks?

Buah Belimbing  
Wuluh (*Averrhoa  
blimbi* L.)  
terhadap  
Pertumbuhan  
Bakteri  
*Escherichia coli*”  
medium, dan  
metode  
inokulasi.

menunjukkan  
hasil yang  
signifikan.

**Lampiran B. Analisis Data Penelitian**

*B.1 Uji Anova Pengaruh Serial Konsentrasi Air Fermentasi Kombucha Buluh terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*

**Descriptives**

zona hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol negatif	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
kontrol positif	3	2.9833	.02517	.01453	2.9208	3.0458	2.96	3.01
25%	3	.2433	.04163	.02404	.1399	.3468	.21	.29
27.5%	3	.3000	.01732	.01000	.2570	.3430	.29	.32
30%	3	.3400	.03464	.02000	.2539	.4261	.32	.38
32.5%	3	.3833	.02517	.01453	.3208	.4458	.36	.41
35%	3	.4233	.02517	.01453	.3608	.4858	.40	.45
Total	21	.6676	.97785	.21339	.2225	1.1127	.00	3.01

## ANOVA

zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.114	6	3.186	4344.026	.000
Within Groups	.010	14	.001		
Total	19.124	20			

*B.2 Uji BNT Pengaruh Serial Konsentrasi Air Fermentasi Kombucha sari buluh terhadap pertumbuhan Escherichia coli*

POST HOC

## Multiple Comparisons

zona hambat

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	-2.98333*	.02211	.000	-3.0308	-2.9359
	25%	-.24333*	.02211	.000	-.2908	-.1959
	27.5%	-.30000*	.02211	.000	-.3474	-.2526
	30%	-.34000*	.02211	.000	-.3874	-.2926
	32.5%	-.38333*	.02211	.000	-.4308	-.3359
	35%	-.42333*	.02211	.000	-.4708	-.3759
kontrol positif	kontrol negatif	2.98333*	.02211	.000	2.9359	3.0308
	25%	2.74000*	.02211	.000	2.6926	2.7874
	27.5%	2.68333*	.02211	.000	2.6359	2.7308
	30%	2.64333*	.02211	.000	2.5959	2.6908

	32.5%	2.60000*	.02211	.000	2.5526	2.6474
	35%	2.56000*	.02211	.000	2.5126	2.6074
25%	kontrol negatif	.24333*	.02211	.000	.1959	.2908
	kontrol positif	-2.74000*	.02211	.000	-2.7874	-2.6926
	27.5%	-.05667*	.02211	.023	-.1041	-.0092
	30%	-.09667*	.02211	.001	-.1441	-.0492
	32.5%	-.14000*	.02211	.000	-.1874	-.0926
	35%	-.18000*	.02211	.000	-.2274	-.1326
27.5%	kontrol negatif	.30000*	.02211	.000	.2526	.3474
	kontrol positif	-2.68333*	.02211	.000	-2.7308	-2.6359
	25%	.05667*	.02211	.023	.0092	.1041
	30%	-.04000	.02211	.092	-.0874	.0074
	32.5%	-.08333*	.02211	.002	-.1308	-.0359
	35%	-.12333*	.02211	.000	-.1708	-.0759
30%	kontrol negatif	.34000*	.02211	.000	.2926	.3874
	kontrol positif	-2.64333*	.02211	.000	-2.6908	-2.5959
	25%	.09667*	.02211	.001	.0492	.1441
	27.5%	.04000	.02211	.092	-.0074	.0874
	32.5%	-.04333	.02211	.070	-.0908	.0041
	35%	-.08333*	.02211	.002	-.1308	-.0359
32.5%	kontrol negatif	.38333*	.02211	.000	.3359	.4308
	kontrol positif	-2.60000*	.02211	.000	-2.6474	-2.5526
	25%	.14000*	.02211	.000	.0926	.1874
	27.5%	.08333*	.02211	.002	.0359	.1308
	30%	.04333	.02211	.070	-.0041	.0908
	35%	-.04000	.02211	.092	-.0874	.0074



35%	kontrol negatif	.42333*	.02211	.000	.3759	.4708
	kontrol positif	-2.56000*	.02211	.000	-2.6074	-2.5126
25%		.18000*	.02211	.000	.1326	.2274
27.5%		.12333*	.02211	.000	.0759	.1708
30%		.08333*	.02211	.002	.0359	.1308
32.5%		.04000	.02211	.092	-.0074	.0874

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Lampiran C. Skor Keseluruhan Validasi Buku Non-teks**

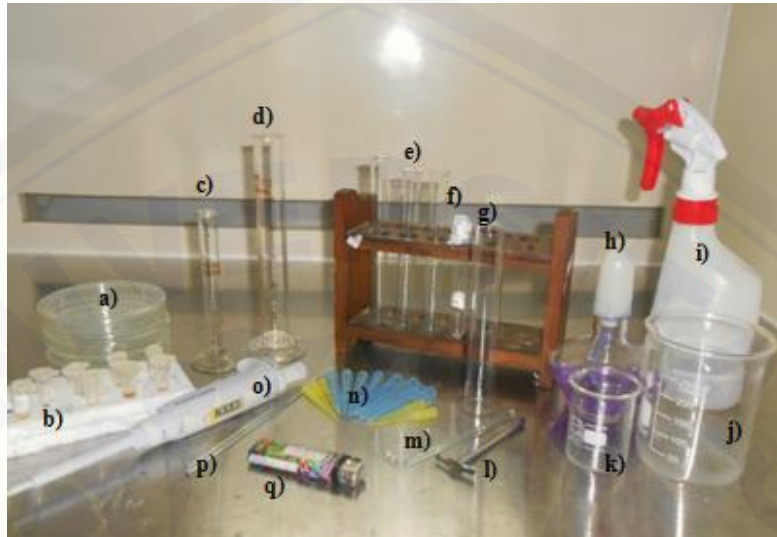
## Hasil Uji Validasi Buku Non-teks

Uraian	Skor dari Validator				Rata2
	V1	V2	V3	V4	
Mencantumkan nama pengarang/ penulis atau editor	4	4	4	4	
Bukan merupakan buku acuan wajib bagi peserta didik dalam mengikuti mata pelajaran tertentu	4	3	4	4	
Materi buku tidak dilengkapi dengan instrumen evaluasi dalam bentuk pertanyaan, tes atau bentuk lainnya	4	4	4	4	
Tidak terkait dengan Standar Kompetensi/Kompetensi Dasar dalam Standar Isi	3	4	4	3	
Tidak terkait dengan Standar Kompetensi/Kompetensi Dasar dalam Standar Isi	3	3	5	2	
Cocok untuk dijadikan sebagai bahan pengayaan	3	3	5	4	
Ada bagian awal (prakata, pengantar, dan daftar isi)	4	4	4	4	
Ada bagian isi atau materi	3	4	4	4	
Ada bagian akhir (daftar pustaka, glosarium)	3	4	4	4	
Isi buku sesuai dengan ideologi dan kebijakan politik Negara	3	3	4	4	

Isi buku sesuai dengan perkembangan ilmu yang mutakhir disahih dan akurat	2	3	4	4	
Isi buku sudah menggunakan sumber yang sesuai dengan kondisi Indonesia	3	3	4	4	
Materi/isi menghindari masalah SARA, Bias gender, serta Pelanggaran HAM	3	4	4	4	
Penyajian materi/isi dilakukan secara runtun, bersistem, lugas, dan mudah dipahami	3	4	3	4	
Penyajian materi/isi mengembangkan kecakapan akademik, kreativitas, kemampuan berinovasi	3	3	4	4	
Penyajian materi/isi menumbuhkan motivasi untuk mengetahui lebih jauh	3	4	4	4	
Ilustrasi (gambar, foto, diagram tabel) yang digunakan sesuai dan proporsional	3	3	4	4	
Istilah yang digunakan baku	4	3	4	4	
Bahasa (ejaan, kata, kalimat dan paragraf) yang digunakan dengan tepat, lugas, dan jelas	3	4	4	4	
<b>Nilai validasi buku non-teks(%)</b>	<b>80</b>	<b>88</b>	<b>96</b>	<b>96</b>	<b>90</b>
<b>Rata-rata skor validasi buku karya ilmiah populer</b>	<b>3,21</b>	<b>3,52</b>	<b>3,84</b>	<b>3,84</b>	<b>14,3</b>

## Lampiran D. Foto Penelitian

### D.1 Foto alat dan bahan penelitian



Gambar D.1 Alat dan bahan penelitian

**Keterangan:** a) Cawan petri; b) Serial konsentrasi *kombucha* sari *buluh* di evendrop; c) Gelas ukur 50 ml; d) Gelas ukur 100 ml; e) Tabung reaksi kecil; f) Suspensi bakteri *E. coli*; g) Tabung reaksi besar; h) Bunsen; i) Alkohol 70%; j) *Beaker glass* 500 ml; k) *Beaker glass* 100 ml; l) Cetakan sumuran; m) Gigaskrin; n) Tip biru dan tip kuning; o) Mikropipet; p) Ose; q) Korek api.

### D.2 Foto saat penelitian



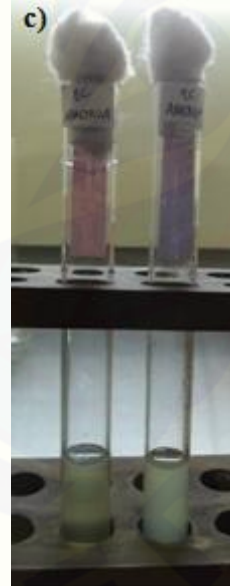
Gambar D.2.1 Peneliti sedang menuang starter *kombucha* ke dalam sari buah belimbing wuluh



Gambar D.2.2 Peneliti sedang menuang medium NA ke cawan petri



Gambar D.2.3 Penggunaan spektrofotometer untuk pengenceran bakteri *E. coli* sesuai standart Mac Farland

*D.3 Foto Hasil Penelitian*

Gambar D.3.1 Hasil Karakteristik Uji Biokimia Bakteri *E. coli*

**Keterangan :** a) uji katalase bakteri *E. coli*; b) uji nitrat bakteri *E. coli*; c) uji amoniak bakteri *E. coli*.



Gambar D.3.2 Serial konsentrasi *kombucha sari buluh*



Gambar D.3.3 *Kombucha sari buluh* yang siap dikonsumsi

**Lampiran E. Instrumen Validasi Buku Non-teks****LEMBAR KUESIONER****UJI PRODUK BUKU KARYA ILMIAH POPULER****“KOMBUCHA BULUH YANG MENYEHATKAN BADAN”**

(mengungkap khasiat *kombucha* buluh sebagai minuman herbal obat diare)

**I. Identitas Peneliti**

Nama : Yuly Diyan Nur Fajriyah  
Nim : 110210153009  
Jurusan/Prodi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP)  
Universitas Jember

**II. Pengantar**

Dalam Rangka menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada program studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penyusun melaksanakan penelitian sebagai salah satu bentuk tugas akhir dan kewajiban yang harus diselesaikan. Penelitian yang dilakukan penyusun dengan judul : **“Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks”**.

Untuk mencapai tujuan tersebut, penyusun dengan hormat meminta kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian daftar kuesioner yang peneliti ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu mengisi daftar kuesioner yang saya ajukan.

Penyusun

Yuly Diyan Nur F.



**III. Identitas Responden**

Nama :  
 Alamat Rumah :  
 Jenis Kelamin :  
 Usia :  
 Pendidikan terakhir :  
 No. Telepon/HP :

NO	URAIAN	SKOR
<b>A</b>	<b>KETENTUAN DASAR</b>	
1	Mencantumkan nama pengarang/penulis atau editor	<b>1 2 3 4</b>
<b>B</b>	<b>CIRI BUKU NON-TEKS</b>	
1	Bukan merupakan buku acuan wajib bagi peserta didik dalam mengikuti mata pelajaran tertentu	<b>1 2 3 4</b>
2	Materi buku tidak dilengkapi dengan instrumen evaluasi dalam bentuk pertanyaan, tes atau bentuk lainnya	<b>1 2 3 4</b>
3	Tidak terkait dengan Standar Kompetensi/Kompetensi Dasar dalam Standar Isi	<b>1 2 3 4</b>
4	Dapat dimanfaatkan oleh pembaca dari semua jenjang pendidikan	<b>1 2 3 4</b>
5	Cocok untuk dijadikan sebagai bahan: a. Pengayaan b. Rujukan, atau c. Panduan pendidik, atau d. .... (spesifikasi)	<b>1 2 3 4</b>
<b>C</b>	<b>KOMPONEN BUKU</b>	
1	Ada bagian awal (prakata, pengantar, dan daftar isi)	<b>1 2 3 4</b>
2	Ada bagian isi atau materi	<b>1 2 3 4</b>

3	Ada bagian akhir (daftar pustaka, glosarium)	1 2 3 4
---	--	---------

<b>D</b>	<b>PENILAIAN BUKU PENGAYAAN PENGETAHUAN</b>	
1	Isi buku sesuai dengan ideologi dan kebijakan politik Negara	1 2 3 4
2	Isi buku sesuai dengan perkembangan ilmu yang mutakhir disahih dan akurat	1 2 3 4
3	Isi buku sudah menggunakan sumber yang sesuai dengan kondisi Indonesia	1 2 3 4
4	Materi/isi menghindari masalah SARA, Bias gender, serta Pelanggaran HAM	1 2 3 4
5	Penyajian materi/isi dilakukan secara runtun, bersistem, lugas, dan mudah dipahami	1 2 3 4
6	Penyajian materi/isi mengembangkan kecakapan akademik, kreativitas, kemampuan berinovasi	1 2 3 4
7	Penyajian materi/isi menumbuhkan motivasi untuk mengetahui lebih jauh	1 2 3 4
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram tabel) yang digunakan sesuai dan proporsional	1 2 3 4
9	Istilah yang digunakan baku	1 2 3 4
10	Bahasa (ejaan, kata, kalimat dan paragraf) yang digunakan dengan tepat, lugas, dan jelas	1 2 3 4

Sumber: Pusat Perbukuan Depdiknas. 2005. Pedoman Penilaian Buku Nonteks Pelajaran. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional. (dengan modifikasi)

**Komentar umum:**

.....

.....

.....

.....  
.....

**Saran:**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**Keterangan:**

- 1= kurang
- 2= cukup
- 3= baik
- 4= sangat baik

**Alasan :**

.....  
.....  
.....  
.....  
.....

**Simpulan Akhir:**

Dilihat dari semua aspek, apakah buku ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai buku pengayaan pengetahuan?

- Layak**
- Tidak layak**

Jember,  
Validator

NIP.

**RUBRIK PENILAIAN MASING-MASING SKOR DALAM PENILAIAN  
LEMBAR KUESIONER UJI PRODUK**

<b>NO</b>	<b>SKOR</b>	<b>KRITERIA</b>	<b>RUBRIK PENILAIAN</b>
1	4	Sangat Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan tidak ada kekurangan dengan produk buku non teks yang ada.
2	3	Baik	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai, meski ada kekurangan sedikit dengan produk buku non teks yang ada dan perlu pembenaran pada buku nonteks tersebut.
3	2	Cukup	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan ada kekurangan sedikit atau banyak dengan produk buku nonteks yang ada dan perlu pembenaran pada buku non teks tersebut.
4	1	Kurang	Jika masing-masing item pada unsur yang dinilai sangat sesuai dan banyak kekurangan dengan produk buku nonteks yang ada sehingga sangat perlu pembenaran pada buku non teks tersebut.

**PENJELASAN INSTRUMEN PRASELEKSI  
BUKU KARYA ILMIAH POPULER**

**A. Ketentuan Dasar**

Butir 1 : mencantumkan nama pengarang/penulis atau editor

Penjelasan :

Di dalam cover dicantumkan nama pengarang/penulis dan/atau editor

**B. Ciri Buku Nonteks**

Butir 1 : bukan merupakan buku pegangan pokok bagi peserta didik dalam mengikuti mata pelajaran tertentu.

Penjelasan :

Buku bukan merupakan pegangan pokok bagi peserta didik dalam mempelajari mata pelajaran tertentu di sekolah, melainkan sebagai buku pengayaan atau refrensi.

Butir 2 : tidak dilengkapi dengan instrumen evaluasi dalam bentuk pertanyaan, tes, atau lainnya.

Penjelasan :

Di dalam buku tidak terdapat soal latihan yang digunakan untuk mengetahui prestasi belajar atau pemahaman pembacanya.

Butir 3 : tidak terkait dengan sebagian standar kompetensi/kompetensi dasar dalam standar isi.

Penjelasan :

Isi materi buku tidak ada kaitannya dengan standar kompetensi/kompetensi dasar.

Butir 4 : dimanfaatkan oleh pembaca dari semua jenjang pendidikan dan tingkat kelas.

Penjelasan :

Buku tidak bertendensi untuk dipakai pada siswa kelas tertentu saja, tetapi dapat digunakan oleh semua tingkat kelas.

Butir 5 : cocok untuk dijadikan sebagai bahan:

- a. Pengayaan
- b. Rujukan, atau
- c. Panduan pendidik, atau
- d. .... (spesifikasi)

Penjelasan :

Buku dapat digunakan sebagai (salah satu berikut ini).

- a. Buku pengayaan yaitu buku yang memuat materi yang dapat memperkaya buku teks pendidikan dasar, menengah, dan perguruan tinggi.
- b. Buku referensi yaitu buku yang isi dan penyajiannya dapat digunakan untuk memperoleh informasi tentang ilmu pengetahuan teknologi, seni, dan budaya secara mendalam dan luas.
- c. Buku panduan pendidik yaitu buku yang berfungsi sebagai pemandu, pengarah, dan pedoman bagi tenaga pendidik, tenaga kependidikan, pemerhati pendidikan, orang tua dalam proses pendidikan dan pembelajaran.

### C. Komponen Buku

Butir 1 : ada bagian awal (prakata, pengantar, dan daftar isi)

Penjelasan :

Dibagian awal buku terdapat prakata dan/atau pengantar dan daftar isi.

- a. Prakata dan/atau pengantar pada awal buku berisi tujuan penulisan, cara belajar yang harus diikuti, ucapan terima kasih, kelebihan buku, keterbatasan buku dan hal lain yang dianggap penting.
- b. Daftar isi berisi struktur buku secara lengkap yang memberikan gambaran tentang isi buku secara umum. Dibuat dalam bentuk pointer dan halaman materi ajar.

Butir 2 : ada bagian isi atau materi

Penjelasan :

Di dalam buku terdapat isi materi yang dapat memberikan wawasan pengetahuan dan/atau meningkatkan keprofesionalan pendidik dan/atau tenaga kependidikan. Isi atau materi harus sesuai dengan judul buku.

Butir 3 : ada bagian akhir (daftar pustaka, glosarium)

Penjelasan :

Di bagian akhir buku terdapat daftar pustaka, glosarium sesuai dengan keperluan.

- a. Daftar pustaka merupakan daftar buku yang digunakan sebagai bahan rujukan. Penulisan buku tersebut yang diawali dengan nama pengarang (yang disusun secara alfabetis), tahun terbit, judul buku, tempat, dan nama penerbit.
- b. Glosarium berisi istilah-istilah penting dalam teks dengan penjelasan arti istilah tersebut, dan disusun alfabetis.

#### **D. Pengayaan Buku Pengayaan Pengetahuan**

Butir 1 : materi/isi sesuai dengan ideology dan kebijakan politik Negara.

Penjelasan : materi isi buku harus tidak bertentangan dengan pancasila, tidak bertentangan dengan kebijakan politik Negara, dan tidak bertendensi untuk memecah belah keutuhan Negara Kesatuan Republik Indonesia (NKRI).

Butir 2 : isi buku sesuai dengan perkembangan ilmu yang mutakhir, sah, dan akurat.

Penjelasan :

- a. Materi/isi harus sesuai dengan konsep ilmuwan dan perkembangan ilmu pengetahuan, teknologi, perkembangan seni dan budaya mutakhir;
- b. Materi/isi buku harus berupa paparan keilmuan yang dapat dipercaya dan dilengkapi keilmuan;
- c. Materi/isi buku harus berupa pengetahuan yang tidak menimbulkan multi tafsir dari pihak pembaca.

Butir 3 : isi buku sudah maksimal menggunakan sumber yang sesuai dengan kondisi di Indonesia

Penjelasan :

Materi/isi buku mengangkat nilai-nilai moral dan budaya bangsa Indonesia, tidak bertentangan dengan ciri khas, nilai budaya, dan jati diri bangsa Indonesia. Materi ini tidak menentang atau bertentangan dengan perilaku, karakteristik, dan kepribadian bangsa Indonesia.

Butir 4 : materi/isi menghindari masalah SARA, Bias Gender, serta pelanggaran HAM

Penjelasan :

- a. Bahasa dan/atau gambar yang terdapat di dalam buku harus tidak menimbulkan masalah suku, agama, ras, dan antargolongan;
- b. Bahasa dan/atau gambar dalam buku harus tidak mengungkapkan atau menyajikan sesuatu yang membiaskan (mendiskreditkan) jenis kelamin laki-laki atau perempuan;
- c. Bahasa dan/atau gambar dalam buku harus tidak mengungkapkan atau menyajikan hal-hal yang diduga bertentangan dengan HAM.



Butir 5 : penyajian materi/isi dilakukan secara runtun, bersistem, lugas, dan mudah dipahami

Penjelasan :

- a. Penyajian materi/isi harus sesuai dengan alur berpikir induktif (khusus ke umum) untuk membuat dugaan-dugaan (konjektor) atau deduktif (umum ke khusus) untuk menyatakan kebenaran suatu proposisi;
- b. Konsep harus disajikan dari yang mudah ke sukar, dari yang sederhana ke kompleks, dan mampu mendorong pembaca terlihat aktif;
- c. Materi prasyarat harus disajikan mendahului materi pokok yang berkaitan dengan materi prasyarat yang bersangkutan;
- d. Penyajian materi harus lugas sehingga materi/isi mudah dipahami dan menyenangkan pembaca (tidak membuat bosan).

Butir 6 : penyajian materi/isi mengembangkan kecakapan akademik, kreativitas, dan kemampuan berinovasi.

Penjelasan :

Penyajian materi harus membuat permasalahan yang dapat merangsang tumbuhnya berpikir kritis, kreatif, atau inovatif. Sajian materinya juga dapat mengembangkan kecakapan akademik yaitu membuat pembaca tidak lekas percaya, selalu berusaha menemukan kesalahan atau kekliruan, atau tajam analisisnya dalam menguji kebenaran jawaban. Sajian materi juga dapat menumbuhkan kreativitas pembaca ditandai oleh dimilikinya daya cipta atau kemampuan mencipta. Setelah itu, penyajian materi juga dapat menumbuhkan inovasi pembaca ditandai oleh adanya pembaharuan kreasi baru dalam gagasan atau metode.

Butir 7 : penyajian materi/isi menumbuhkan motivasi untuk mengetahui lebih jauh.

Penjelasan :

Penyajian materi harus mendorong pembaca untuk memperoleh informasi lebih lanjut dari berbagai sumber lain seperti internet, buku, artikel, dan sebagainya.

Butir 8 : ilustrasi (gambar, foto, diagram, tabel) yang digunakan sesuai dan proporsional.

Penjelasan :

- a. Ukuran gambar (foto atau repro-foto dan lukisan) yang digunakan harus proporsional jika dibandingkan dengan ukuran aslinya dan menimbulkan minat baca;
- b. Bentuk gambar (foto atau repro-foto dan lukisan) yang digunakan harus sesuai dengan bentuk aslinya dan menimbulkan minat baca;
- c. Warna gambar (foto atau repro-foto dan lukisan) yang digunakan harus sesuai dengan peruntukan pesan atau materi yang disampaikan dan menimbulkan minat baca;
- d. Setiap ilustrasi harus diberi keterangan secara lengkap sehingga mempermudah pembaca untuk memahaminya;
- e. Setiap tabel diberi judul dan dilengkapi dengan sumbernya.

Butir 9 : istilah yang digunakan baku

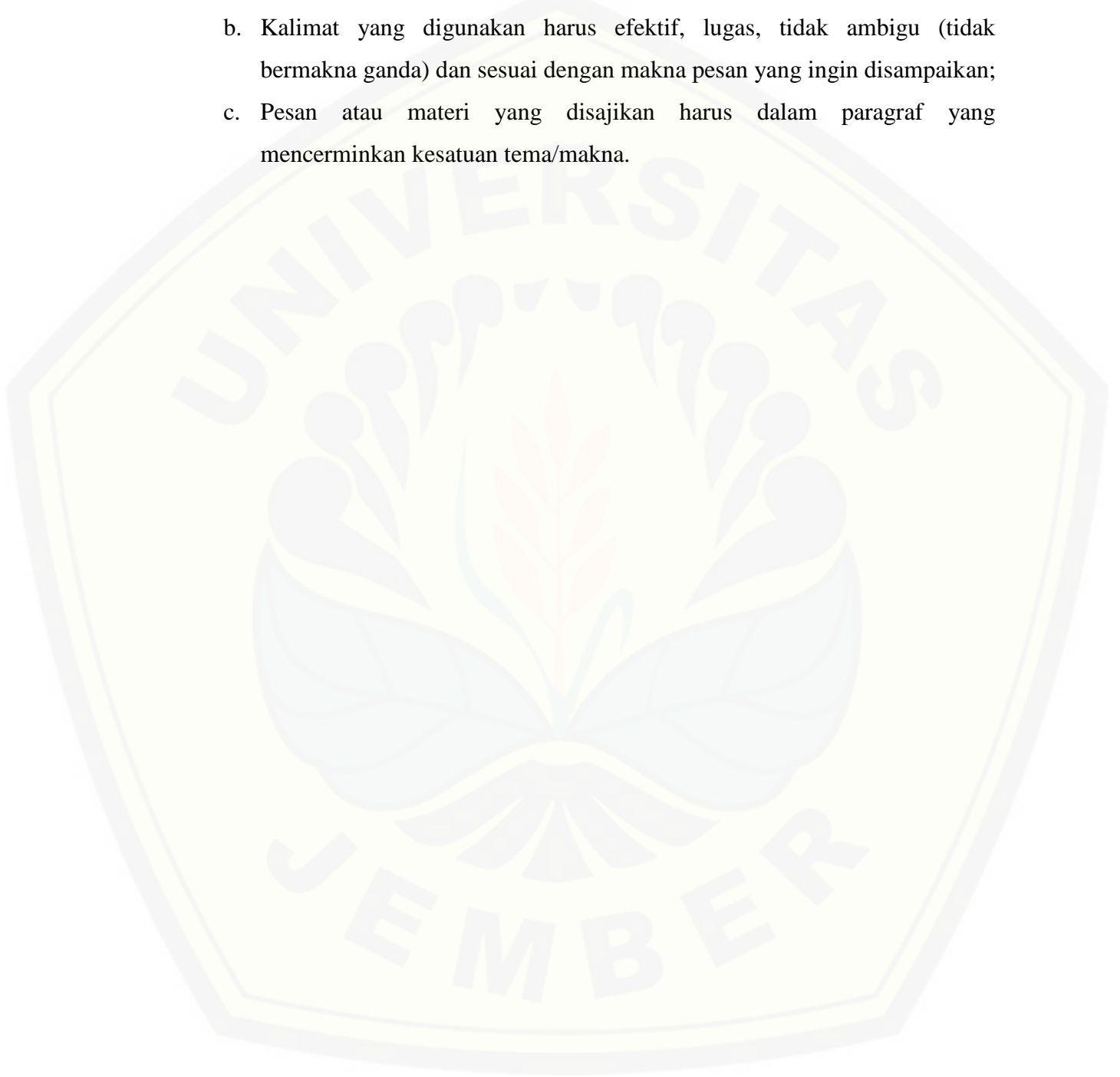
Penjelasan :

Istilah (penulisan huruf dan tanda baca) yang digunakan harus sesuai dengan kaidah penulisan bahasa Indonesia yang benar (EYD).

Butir 10 : bahasa (ejaan, kata, kalimat, paragraf) yang digunakan tepat, lugas, dan jelas.

Penjelasan :

- a. Ejaan, kata atau istilah (keilmuwan atau asing) yang digunakan harus benar baik sebagai bentuk serapan maupun sebagai istilah keilmuwan;
- b. Kalimat yang digunakan harus efektif, lugas, tidak ambigu (tidak bermakna ganda) dan sesuai dengan makna pesan yang ingin disampaikan;
- c. Pesan atau materi yang disajikan harus dalam paragraf yang mencerminkan kesatuan tema/makna.



## Lampiran F. Design Buku Non-teks

## F.1 Design cover depan dan belakang buku non-teks setelah divalidasi



Gambar F.1 Design cover depan dan belakang buku non-teks

*F.2 Biografi Penulis*

Gambar F.2 Biografi Penulis

**Lampiran G. Sampel Hasil Validasi Buku Non-teks***G.1 Validasi Buku Non-teks dari Dosen Biologi FKIP UNEJ*

**LEMBAR KUESIONER**  
**UJI PRODUK BUKU KARYA ILMIAH POPULER**  
**“KOMBUCHA BULUH YANG MENYEHATKAN BADAN”**  
(mengungkap khasiat *kombucha* buluh sebagai minuman herbal obat diare)

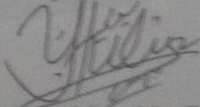
**I. Identitas Peneliti**

Nama : Yuly Diyan Nur Fajriyah  
Nim : 110210153009  
Jurusan/Prodi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP)  
Universitas Jember

**II. Pengantar**

Dalam Rangka menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada program studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penyusun melaksanakan penelitian sebagai salah satu bentuk tugas akhir dan kewajiban yang harus diselesaikan. Penelitian yang dilakukan penyusun dengan judul : **“Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks”**.

Untuk mencapai tujuan tersebut, penyusun dengan hormat meminta kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian daftar kuesioner yang peneliti ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu mengisi daftar kuesioner yang saya ajukan.

Hormat saya,  
Penyusun  
  
Yuly Diyan Nur F.

**III. Identitas Responden**

Nama : Ika Lia Norenda S Pd, PA Pd  
 Alamat Rumah : J. Slamet Riyadi Bg 3 No. 19  
 Jenis Kelamin :  
 Usia : 27 th  
 Pendidikan terakhir : S2  
 No. Telepon/HP :

NO	URAIAN	SKOR
<b>A</b>	<b>KETENTUAN DASAR</b>	
1	Mencantumkan nama pengarang/penulis atau editor	1 2 3 (4)
<b>B</b>	<b>CIRI BUKU NON-TEKS</b>	
1	Bukan merupakan buku acuan wajib bagi peserta didik dalam mengikuti mata pelajaran tertentu	1 2 (3) 4
2	Materi buku tidak dilengkapi dengan instrumen evaluasi dalam bentuk pertanyaan, tes atau bentuk lainnya	1 2 3 (4)
3	Tidak terkait dengan Standar Kompetensi/Kompetensi Dasar dalam Standar Isi	1 2 3 (4)
4	Dapat dimanfaatkan oleh pembaca dari semua jenjang pendidikan	1 2 (3) 4
5	Cocok untuk dijadikan sebagai bahan: a. Pengayaan b. Rujukan, atau c. Panduan pendidik, atau d. .... (spesifikasi)	1 2 (3) 4
<b>C</b>	<b>KOMPONEN BUKU</b>	
1	Ada bagian awal (prakata, pengantar, dan daftar isi)	1 2 3 (4)
2	Ada bagian isi atau materi	1 2 3 (4)
3	Ada bagian akhir (daftar pustaka, glosarium)	1 2 3 (4)

D	PENILAIAN BUKU PENGAYAAN PENGETAHUAN	
1	Isi buku sesuai dengan ideologi dan kebijakan politik Negara	1 2 (3) 4
2	Isi buku sesuai dengan perkembangan ilmu yang mutakhir disahih dan akurat	1 2 (3) 4
3	Isi buku sudah menggunakan sumber yang sesuai dengan kondisi Indonesia	1 2 (3) 4
4	Materi/isi menghindari masalah SARA, Bias gender, serta Pelanggaran HAM	1 2 3 (4)
5	Penyajian materi/isi dilakukan secara runtun, bersistem, lugas, dan mudah dipahami	1 2 3 (4)
6	Penyajian materi/isi mengembangkan kecakapan akademik, kreativitas, kemampuan berinovasi	1 2 (3) 4
7	Penyajian materi/isi menumbuhkan motivasi untuk mengetahui lebih jauh	1 2 3 (4)
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram tabel) yang digunakan sesuai dan proporsional	1 2 (3) 4
9	Istilah yang digunakan baku	1 2 (3) 4
10	Bahasa (ejaan, kata, kalimat dan paragraf) yang digunakan dengan tepat, lugas, dan jelas	1 2 3 (4)

Sumber: Pusat Perbukuan Depdiknas. 2005. Pedoman Penilaian Buku Nonteks Pelajaran. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional. (dengan modifikasi)

**Komentar umum:**

- Silahkan cek lagi buku karya populer ilmiah atau buku ilmiah populer
- Daftar isi dirapikan lagi, begitu juga daftar gambar
- Penulisan E. coli harus konsisten, gambar di paragraf 1 Escherichia coli, paragraf 2 E coli, paragraf selanjutnya kembali Escherichia coli. Silahkan cek di hal pertama hingga akh
- Gambar blimbing waluh kalau bisa gambar asli karena ditunjukkan selular byk ditambun
- Hal 9 paragraf terlalu panjang, silahkan dijadikan beberapa paragraf



**Saran:**

- Manfaat ketimbang lebih baik diawali dgn manfaat dlm kehidupan sehari-hari. Baru jelaskan manfaat secara detail
- Langkah kerja sebaiknya keterangan dan gambar jadi satu misal langkah kerja no 1 itu gambaranya seperti apa taruh di sampingnya atau bawahnya dst. jadi orang bisa memahami langsung melalui kata dan gambar

**Keterangan:**

- Pada hal 21 kalimat terakhir, maksudnya bagaimana? stahlan cek.

1= kurang  
2= cukup  
3= baik  
4= sangat baik

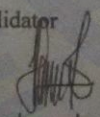
**Alasan :**

.....  
.....  
.....  
.....

**Simpulan Akhir:**

Dilihat dari semua aspek, apakah buku ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai buku pengayaan pengetahuan?

Layak  
 Tidak layak

Jember, 30 Mei 2015  
Validator  
  
Ika Lia N. S.Pd, M.Pd  
NIP.

## G.2 Validasi Buku Non-teks dari Masyarakat Umum

**LEMBAR KUESIONER**  
**UJI PRODUK BUKU KARYA ILMIAH POPULER**  
**“KOMBUCHA BULUH YANG MENYEHATKAN BADAN”**  
(mengungkap khasiat *kombucha* buluh sebagai minuman herbal obat diare)

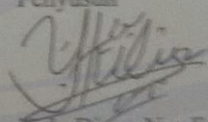
**I. Identitas Peneliti**

Nama : Yuly Diyan Nur Fajriyah  
Nim : 110210153009  
Jurusan/Prodi : Pendidikan MIPA/ Pendidikan Biologi  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP)  
Universitas Jember

**II. Pengantar**

Dalam Rangka menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada program studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember, penyusun melaksanakan penelitian sebagai salah satu bentuk tugas akhir dan kewajiban yang harus diselesaikan. Penelitian yang dilakukan penyusun dengan judul : “Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks”.

Untuk mencapai tujuan tersebut, penyusun dengan hormat meminta kesediaan Bapak/Ibu untuk membantu dalam melakukan pengisian daftar kuesioner yang peneliti ajukan sesuai dengan keadaan sebenarnya. Kerahasiaan jawaban serta identitas Bapak/Ibu akan dijamin oleh kode etik dalam penelitian. Penulis mengucapkan banyak terima kasih atas perhatian dan kesediaan Bapak/Ibu mengisi daftar kuesioner yang saya ajukan.

Hormat saya,  
Penyusun  
  
Yuly Diyan Nur F.

## III. Identitas Responden

Nama : Sulastri, S.TP, M.Pd.  
 Alamat Rumah : Jl. Pb. Sudirman I/74 - Tanggul - Jember  
 Jenis Kelamin : Perempuan  
 Usia : 53 th.  
 Pendidikan terakhir : S<sub>2</sub>  
 No. Telepon/HP : 08123494450

NO	URAIAN	SKOR
<b>A</b>	<b>KETENTUAN DASAR</b>	
1	Mencantumkan nama pengarang/penulis atau editor	1 2 3 (4)
<b>B</b>	<b>CIRI BUKU NON-TEKS</b>	
1	Bukan merupakan buku acuan wajib bagi peserta didik dalam mengikuti mata pelajaran tertentu	1 2 3 (4)
2	Materi buku tidak dilengkapi dengan instrumen evaluasi dalam bentuk pertanyaan, tes atau bentuk lainnya	1 2 3 (4)
3	Tidak terkait dengan Standar Kompetensi/Kompetensi Dasar dalam Standar Isi	1 2 3 (4)
4	Dapat dimanfaatkan oleh pembaca dari semua jenjang pendidikan	1 2 (3) 4
5	Cocok untuk dijadikan sebagai bahan: a. Pengayaan b. Rujukan, atau c. Panduan pendidik, atau d. .... (spesifikasi)	1 2 (3) 4
<b>C</b>	<b>KOMPONEN BUKU</b>	
1	Ada bagian awal (prakata, pengantar, dan daftar isi)	1 2 3 (4)
2	Ada bagian isi atau materi	1 2 3 (4)
3	Ada bagian akhir (daftar pustaka, glosarium)	1 2 3 (4)

D	PENILAIAN BUKU PENGAYAAN PENGETAHUAN	
1	Isi buku sesuai dengan ideologi dan kebijakan politik Negara	1 2 3 (4)
2	Isi buku sesuai dengan perkembangan ilmu yang mutakhir disahih dan akurat	1 2 3 (4)
3	Isi buku sudah menggunakan sumber yang sesuai dengan kondisi Indonesia	1 2 3 (4)
4	Materi/isi menghindari masalah SARA, Bias gender, serta Pelanggaran HAM	1 2 3 (4)
5	Penyajian materi/isi dilakukan secara runtun, bersistem, lugas, dan mudah dipahami	1 2 (3) 4
6	Penyajian materi/isi mengembangkan kecakapan akademik, kreativitas, kemampuan berinovasi	1 2 3 (4)
7	Penyajian materi/isi menumbuhkan motivasi untuk mengetahui lebih jauh	1 2 3 (4)
8	Ilustrasi (gambar, foto, diagram tabel) yang digunakan sesuai dan proporsional	1 2 3 (4)
9	Istilah yang digunakan baku	1 2 3 (4)
10	Bahasa (ejaan, kata, kalimat dan paragraf) yang digunakan dengan tepat, lugas, dan jelas	1 2 3 (4)

Sumber: Pusat Perbukuan Depdiknas. 2005. Pedoman Penilaian Buku Nonteks Pelajaran. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional. (dengan modifikasi)

**Komentar umum:**

.....

.....

.....

.....

.....

Saran: ditambahkan def usi belia hrs dice  
del hal hrs d. E. Esti

**Keterangan:**

- 1= kurang
- 2= cukup
- 3= baik
- 4= sangat baik

**Alasan :**

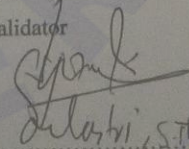
.....  
.....  
.....  
.....

**Simpulan Akhir:**

Dilihat dari semua aspek, apakah buku ini layak atau tidak layak untuk digunakan sebagai buku pengayaan pengetahuan?

- Layak
- Tidak layak

Jember,  
Validator



.....  
NIP. 19600317 198503 2 008





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
Jalan Kalimantan Nomor 37 Kampus Bumi Tegalboto Jember 68121  
Telepon: 0331-334988, 330738 Fax: 0331-532475  
Laman: www.fkip.unej.ac.id

**LEMBAR KONSULTASI PENYUSUNAN SKRIPSI**  
**Pembimbing II**

Nama : Yuly Diyan Nur Fajriyah  
NIM/Angkatan : 110210103043/2011  
Jurusan/Pogram Studi : Pendidikan MIPA/Pendidikan Biologi  
Judul Skripsi : Pengaruh *Kombucha* Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* serta Pemanfaatannya sebagai Buku Non-teks  
Dosen Pembimbing II : Siti Murdiyah, S.Pd., M.Pd.

**Kegiatan Konsultasi**

No.	Hari/Tanggal	Materi Konsultasi	Tanda Tangan Pembimbing
1.	Selasa, 19 Agustus 2014	Pengajuan Judul	
2.	Senin, 12 Desember 2014	Konsultasi	A.
3.	Selasa, 29 Desember 2014	Penyerahan Bab 1	
4.	Jumat, 23 Januari 2015	Konsultasi Bab 1	A.
5.	Kamis, 29 Januari 2015	Penyerahan Bab 1-3	
6.	Senin, 9 Februari 2015	Konsultasi Bab 1-3	A.
7.	Senin, 16 Februari 2015	Konsultasi uji pendahuluan	
8.	Kamis, 19 Februari 2015	Konsultasi hasil uji pendahuluan	A.
9.	Jumat, 20 Februari 2015	Penyerahan revisi Bab 1-3	
10.	Kamis, 26 Februari 2015	Konsultasi Bab 1-3	A.
11.	Senin, 2 Maret 2015	Konsultasi draft buku non-teks	
12.	Jumat, 6 Maret 2015	Konsultasi Bab 3	A.
13.	Jumat, 20 Maret 2015	ACC seminar	
14.	Jumat, 17 April 2015	Konsultasi hasil uji akhir	A.
15.	Selasa, 21 April 2015	Penyerahan Bab 4-5	
16.	Senin 27 April 2015	Konsultasi buku non-teks dan Bab 4-5	A.
17.	Kamis, 28 Mei 2015	Penyerahan revisi Bab 4-5	
18.	Senin, 15 Juni 2015	Konsultasi Bab 4-5	A.
19.	Kamis, 18 Juni 2015	Konsultasi Bab 4-5	
20.	Senin, 22 Juni 2015	Konsultasi Bab 4-5	A.
21.	Rabu, 24 Juni 2015	Acc sidang	

**Catatan:**

1. Lembar ini harus dibawa dan diisi setiap melakukan konsultasi.
2. Lembar ini harus dibawa sewaktu seminar proposal skripsi dan ujian skripsi.