

LAMPIRAN

Lampiran 1
Perhitungan Pembuatan *Eco-enzyme*

1. *Eco-enzyme* 1

Kulit Lemon = 900 gram

Air = 3 liter

Gula Pohot/ molase = 300 ml

2. *Eco-enzyme* 2

Kulit Lemon = 450 gram

Kulit Nanas = 450 gram

Air = 3 liter

Gula Pohot/ molase = 300 ml

3. *Eco-enzyme* 3

Kulit Lemon = 300 gram

Kulit Nanas = 300 gram

Kangkung = 300 gram

Air = 3 liter

Gula Pohot/Molase = 300 ml

Lampiran 2

Perhitungan Pembuatan Media

1. *Nutrient Agar*

Literatur 6 gram dalam 300 ml aquadest

$$\text{Perhitungan} = \frac{6}{300} = \frac{x}{75}$$

$$= 450 = 300x$$

$x=1,5$ gram dilarutkan dalam aquadest 75 ml

2. Braint Heart Infusion

Literatur 11,5 gram dalam 300 ml

$$\text{Perhitungan} = \frac{11,5}{300} = \frac{x}{75}$$

$$= 863,5 = 300x$$

$x = 2,87$ gram dilarutkan dalam aquadest 75 ml

3. Mueller Hinton Agar

Literatur 11,4 gram dalam 300 ml

$$\text{Perhitungan} = \frac{11,4}{300} = \frac{x}{300}$$

$$= 3.420 = 300x$$

$x = 11,4$ gram dilarutkan dalam aquadest 300 ml

Lampiran 3

Diameter Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

Perhitungan diameter zona hambet di ukur menggunakan jangka sorong

$$\text{Diameter zona bening} = \frac{\text{diameter horizontal} + \text{diameter vertikal}}{2}$$

1. *Eco-enzyme* dengan bahan organik kulit lemon
 - Replikasi 1 = d= 7,09 mm
 - Replikasi 2= d= 9,06 mm
 - Replikasi 3= d= 7,06 mm
2. *Eco-enzyme* dengan bahan organik kulit lemon dan kulit nanas
 - Replikasi 1 = d= 8,05 mm
 - Replikasi 2= d= 10,07 mm
 - Replikasi 3= d= 16,01 mm
3. *Eco-enzyme* dengan bahan organik kulit lemon, kulit nanas dan kangkung
 - Replikasi 1 = d= 8,08 mm
 - Replikasi 2= d= 11,03 mm
 - Replikasi 3= d= 15,04 mm
4. Aquadest steril
 - Replikasi 1= 0 mm
 - Replikasi2= 0 mm
 - Replikasi 3= 0 mm

Pembagian Kelompok	Pengamatan Zona Hambat Bakteri (mm)			Rata-Rata Zona Hambat	Aktivitas Antibakteri
	I	II	III		
K1	0	0	0	0	-
K2	7,09	9,06	5,04	7,06mm	Sedang
K3	8,05	10,07	16,01	11,38 mm	Kuat
K4	8,08	11,03	15,04	11,39 mm	Kuat

Lampiran 4

Hasil data analisis *eco-enzyme* terhadap daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan SPSS V22 dengan uji ANOVA

Test of Homogeneity of Variances				
Diameter zona hambat				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2.961	3	8	.098	

Hasil Diameter Zona Hambat Bakteri					
	Jumlah	Df	Jumlah Rata-Rata	F	Sig.
Antar Kelompok	259.625	3	86.542	10.375	.004
Dalam Kelompok	66.731	8	8.341		
Total	326.356	11			

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Diameter Zona Hambat							
Bonferroni							
(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std.Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
R1	<i>Eco-enzyme 1</i>	-7.06333	2.35816	.103	-15.2671	1.1404	
	<i>Eco-enzyme 2</i>	-11.37667*	2.35816	.008	-19.5804	-3.1729	
	<i>Eco-enzyme 3</i>	-11.38333*	2.35816	.008	-19.5871	-3.1796	
R2	Aquadest	7.06333	2.35816	.103	-1.1404	15.2671	
	<i>Eco-enzyme 2</i>	-4.31333	2.35816	.629	-12.5171	3.8904	
	<i>Eco-enzyme 3</i>	-4.32000	2.35816	.626	-12.5238	3.8838	
R3	Aquadest	11.37667*	2.35816	.008	3.1729	19.5804	
	<i>Eco-enzyme 1</i>	4.31333	2.35816	.629	-3.8904	12.5171	
	<i>Eco-enzyme 3</i>	-.00667	2.35816	1.000	-8.2104	8.1971	
R4	Aquadest	11.38333*	2.35816	.008	3.1796	19.5871	
	<i>Eco-enzyme 1</i>	4.32000	2.35816	.626	-3.8838	12.5238	
	<i>Eco-enzyme 2</i>	.00667	2.35816	1.000	-8.1971	8.2104	

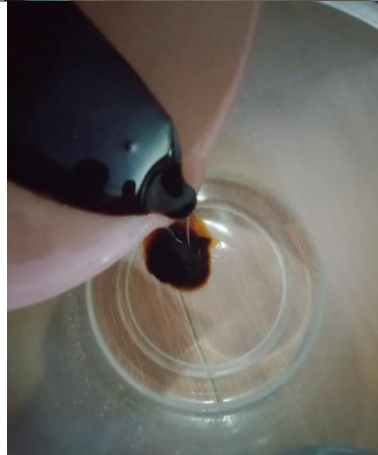
*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 5
Proses pembuatan *eco-enzyme*

Gambar	Keterangan
	Menimbang kulit lemon
	Menimbang kulit nanas
	Menimbang Kangkung



Memasukkan air ke dalam wadah



Memasukkan gula pohan ke dalam wadah



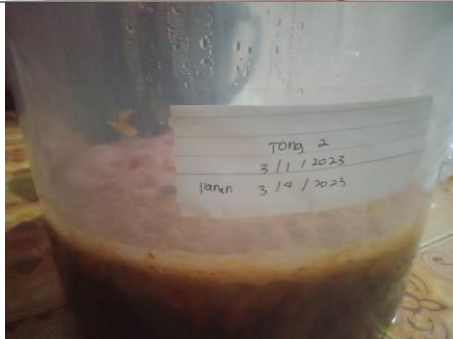
Memasukkan kulit buah lemon, nanas, dan sayur kangkung ke dalam wadah dan diaduk



**Semua bahan telah
tercampur**



**Menutup menggunakan
kresek dan tutup dengan
rapat**



**Memfermentasi selama 3
bulan**



**Hasil fermentasi *eco-enzyme*
1**



Hasil dari fermentasi *eco-enzyme 2*



Hasil dari fermentasi *eco-enzyme 3*



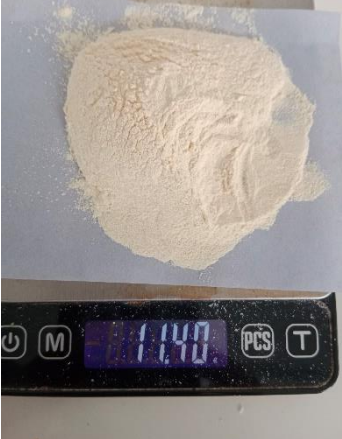


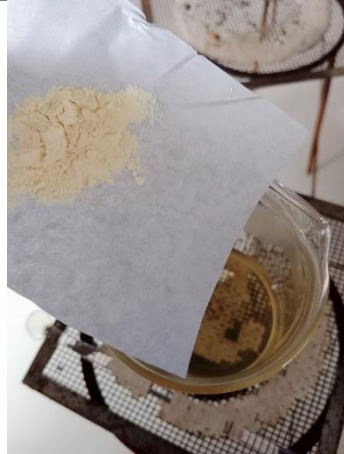
Mendapatkan hasil *Mama-enzyme*



Hasil *eco-enzyme* setelah disaring

Lampiran 6
Proses pembuatan media

Gambar	Keterangan
	<p style="text-align: center;">Proses menimbang bahan NA</p>
	<p style="text-align: center;">Proses menimbang bahan BHI</p>
	<p style="text-align: center;">Proses menimbang bahan MHA</p>



Melarutkan Media Na dengan aquadest



Proses pemanasan media NA sampai larut



Proses pemanasan media BHI sampai larut



**Proses pemanasan media
MHA sampai larut**



**Proses penuangan media ke
dalam cawan petridist**



Media NA



Media BHI



Media MHA



Proses sterilisasi alat dan media



Media NA miring



Proses sterilisasi Ose menggunakan bunsen



Proses pembiakan dari media Na miring ke BHI



Proses inkubasi media



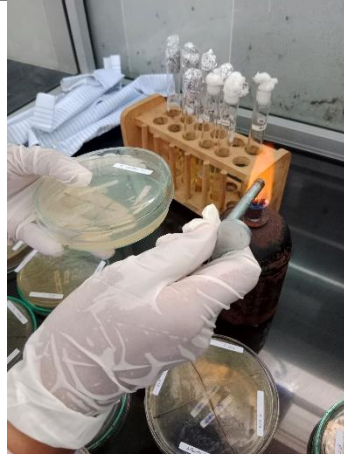
**Pengolesan media BHI cair ke
Media MHA**



**Persipan sebelum
memasukkan larutan *eco-enzyme*
kedalam media MHA**



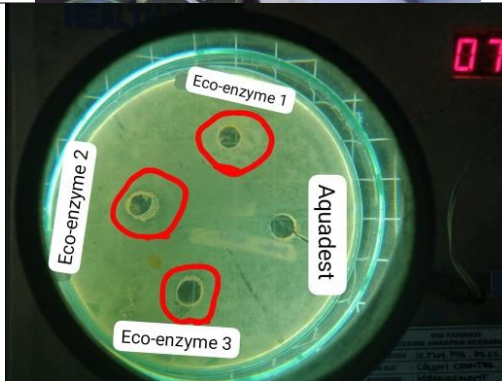
**Siapkan aquadest steril
sebagai kontrol negatif**



**Mensterilkan boordrop
sebelum digunakan untuk
membuat sumuran pada
media MHA dan membuat
lubang sumuran pada media**



**Sebelum memasukkan larutan
kedalam media mikropipet
disterilisasikan terlebih
dahulu menggunakan etanol
selanjutnya masukan larutan
Eco-enzyme pada media yang
sudah dibuat sumuran**



**Setelah diinkubasi,
selanjutnya dilakukan
pengamatan uji daya hambat**

Lampiran 7

Publikasi Jurnal

Jurnal Publikasi BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed

(Link: <http://jos.unsoed.ac.id/index.php/bioe/article/view/11368>)



Pengaruh Jenis Bahan Organik pada Pembuatan *Eco-Enzyme* terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Siti Nurhaliza, Inur Tivani*

Program Studi DIII Farmasi, Politeknik Harapan Bersama, Kota Tegal 52116, Indonesia
 *Corresponding author, Email: tiva.nie40@gmail.com

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 06/02/2024
 Disetujui : 25/03/2024

Abstract

Organic waste in Indonesia is increasing due to population growth. To deal with this problem, the utilization of organic waste in eco-enzymes is an easy solution. Eco-enzyme is the result of the fermentation of organic waste such as fruit and vegetable peels, sugar molasses, and water. This study aims to determine and compare the ability of eco-enzyme from a mixture of different types of organic materials to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The mixture of organic materials in the enzyme used was divided into 3 containers. Eco-enzyme 1 contains lemon peel, sugar, and water. Eco-enzyme 2 consists of lemon peel, pineapple peel, sugar, and water. Eco-enzyme 3 contains lemon peel, pineapple peel, kale vegetables, sugar, and water. The antibacterial activity was tested using the diffusion method. The data analysis method used was a statistical test with the one-way analysis of variance (one-way ANOVA) method and tested homogeneity and Bonferroni post-hoc tests. Based on the results of the eco-enzyme antibacterial activity test against *S. aureus*, shows that certain combinations of organic materials have different effectiveness. The most significant combination of organic components to kill *S. aureus* bacteria was eco-enzyme 3, with an inhibition zone diameter of 11.39 mm. Statistical analysis result showed that there was a significant difference in the inhibition diameter between the organic materials and the enzyme mixture. The homogeneity test showed that the eco-enzyme groups were similar or homogeneous. Bonferroni's post-hoc test results obtained eco-enzyme three most influential in inhibiting *S. aureus* bacteria. It can be concluded that the more mixed types of organic materials used in eco-enzymes, the stronger their ability to inhibit *S. aureus* bacteria.

Key Words: *eco-enzyme, inhibition, organic matter, Staphylococcus aureus*

Abstrak

Sampah organik di Indonesia semakin meningkat akibat pertumbuhan jumlah penduduk. Dalam upaya menangani masalah ini, pemanfaatan sampah organik menjadi *eco-enzyme* adalah solusi yang mudah. *Eco-enzyme* merupakan hasil dari fermentasi sampah organik seperti kulit buah dan sayuran, gula molase dan air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan kemampuan *eco-enzyme* dari campuran jenis bahan organik yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Campuran bahan organik pada *eco-enzyme* yang digunakan dibagi kedalam 3 wadah. *Eco-enzyme* 1 berisi kulit lemon, gula, air. *Eco-enzyme* 2 terdiri dari kulit lemon, kulit nanas, gula, air. *Eco-enzyme* 3 berisi kulit lemon, kulit nanas, sayur kangkung, gula, air. Serta dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi. Metode analisis data yang digunakan yaitu uji statistik dengan metode *One Way Analysis of Variance* (ANOVA satu arah), dan menguji homogenitas serta uji *post-hoc bonferroni*. Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas antibakteri *eco-enzyme* terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa kombinasi bahan organik tertentu memiliki efektivitas yang berbeda. Kombinasi komponen organik yang paling signifikan untuk membunuh bakteri *S. aureus* adalah *eco-enzim* 3, dengan diameter zona hambat 11,39 mm. Hasil analisis data menunjukkan perbedaan signifikan dalam diameter hambat antara bahan organik dan campuran enzim. Uji homogenitas menunjukkan bahwa antar kelompok *eco-enzyme* sama atau homogen dengan nilai signifikan 0,98. Hasil uji *post-hoc bonferroni* diperoleh *eco-enzyme* tiga yang paling berpengaruh dalam menghambat bakteri *S. aureus*. Kesimpulan dari penelitian yang dilakukan yaitu banyaknya campuran jenis bahan organik yang digunakan pada *eco-enzyme*, maka semakin kuat kemampuannya dalam menghambat bakteri *S. aureus*.

Kata kunci: *bahan organik, daya hambat, eco-enzyme, Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Sampah menjadi masalah utama bagi masyarakat Indonesia. Pengolahannya pun menjadi permasalahan yang nyata akibat jumlah pertumbuhan penduduk Indonesia yang semakin meningkat terutama pada sampah organik. Dari data Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Indonesia sampah organik termasuk yang paling banyak

peningkatannya di tahun 2020-2022 yang mencapai 41,28% dibandingkan dengan sampah jenis lain yang relatif rendah (Anon., 2023)

Meskipun terdapat perbaikan dalam sistem pengolahan sampah di Indonesia, pengolahan sampah organik masih relatif rendah. Menurut data yang diperoleh dari Departemen Lingkungan dan Sumber Daya Hutan tahun 2020, hanya sekitar 3% sampah organik yang dapat diolah dalam proses kompos,

sedangkan sisanya masih berakhir di tempat pembuangan akhir sampah (TPAS). Pembuangan sampah organik yang tidak bisa dikelola dengan baik dapat berdampak negatif terhadap lingkungan. Proses penguraian sampah organik di TPA menghasilkan gas metana, yang merupakan salah satu jenis gas buangan yang berkontribusi pada perubahan iklim. Selain itu, pembuangan sampah organik yang tidak terkendali juga dapat menyebabkan pencemaran tanah dan air (Siliana, 2023).

Menurut Imron (2020) salah satu pemanfaatan limbah organik yaitu dengan mengolahnya menjadi *eco-enzyme*. *Eco-enzyme* adalah hasil dari produk fermentasi sampah organik seperti ampas atau kulit buah dan sayuran, gula (gula aren, gula merah, atau gula tebu), dan air. *Eco-enzyme* memiliki banyak manfaat yaitu dapat digunakan sebagai pembersih serbaguna seperti pembersih lantai, pembersih alat rumah tangga alami, deterjen dan pelembut alami, sabun cair alami, membersihkan peptisida, kuman pada sayuran dan buah. Selain itu dapat digunakan untuk perawatan diri seperti pengganti odol/pasta gigi, untuk kumur, sebagai toner. Jamur putih pada *eco-enzyme* atau yang sering disebut *mama enzyme* bisa digunakan untuk masker wajah dan sebagai campuran sampo. Selain itu *eco-enzyme* dapat dimanfaatkan dibidang kesehatan seperti detoks, kebersihan diri, hand sanitizer, mengatasi berbagai macam luka, mengatasi berbagai penyakit kulit yang diakibatkan alergi, infeksi kulit dan lainnya, mengurangi tingkat radiasi elektromagnetik. *Ecoenzyme* juga dapat meningkatkan kualitas udara, air serta tanah, dan sangat membantu dalam pertanian (Poompavong, R., Joean, O., dan Joni, 2020).

Penelitian ini akan memfokuskan pada jenis bahan organik yang digunakan, seperti kulit lemon, kulit nanas dan kangkung. Berdasarkan penelitian Tuberta (2019) menjelaskan bahwa limbah kulit lemon dapat digunakan untuk pembuatan fermentasi *eco-enzyme*, selain itu kulit lemon memiliki kandungan vitamin C dan mengandung berbagai senyawa bioaktif termasuk flavonoid, karotenoid, limonoid, tanin, dan terpenoid. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam lemon memiliki sifat antibakteri. Selain limbah kulit lemon, kulit nanas bisa digunakan sebagai bahan fermentasi *eco-enzyme*. Sama halnya dengan kulit lemon kulit nanas juga banyak mengandung manfaat karena kulit nanas mengandung sejumlah senyawa kimia seperti flavonoid, tannin serta saponin berpotensi sebagai agen antibakterial, kulit nanas di Indonesia sering kali hanya dijadikan limbah (Cayati, 2016).

Limbah organik yang bisa digunakan lagi adalah limbah sayuran, seperti kangkung. Indonesia sebagai negara penghasil sayuran yang melimpah, sering mengimpor sayuran termasuk kangkung. Selain itu, kangkung merupakan bahan pangan yang mudah diperoleh dan dapat ditemukan di pasar-pasar yang tersebar di seluruh Indonesia. Kangkung termasuk salah satu jenis tanaman yang dapat

bertahan hidup di dataran rendah maupun tinggi. Kangkung memiliki daun berwarna hijau yang berfungsi sebagai sumber vitamin A (Sharfina and Fevria, 2022).

Kandungan yang berbeda dari bahan organik yang telah disebutkan diatas akan memberikan pengaruh yang berbeda dalam menghambat bakteri. Penggunaan bahan organik pada *eco-enzyme* sebagai alternatif pengendalian bakteri *S. aureus* telah menarik perhatian peneliti. *Eco-enzyme* merupakan bahan organik yang dihasilkan dari proses dekomposisi bahan organik oleh mikroorganisme. Menurut (Welfalini, Suartha dan Sudipa, 2022) fermentasi *eco-enzyme* memiliki sifat antimikroba yang kuat dan mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Ini karena *enzyme* termasuk asam asetat (H_2COOH), yang berfungsi sebagai agen antibakteri.

Namun, meskipun potensi penggunaan bahan organik *eco-enzyme* sebagai agen antimikroba telah diketahui, masih terdapat kekurangan penelitian yang menyeluruh mengenai jenis bahan organik *eco-enzyme* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh beberapa jenis bahan organik *eco-enzyme* terhadap daya hambat bakteri *S. aureus*. Diharapkan penelitian ini akan memberikan pemahaman yang lebih baik terhadap potensi penggunaan bahan organik *eco-enzyme* sebagai agen antimikroba alternatif dalam pengendalian infeksi bakteri *S. aureus*, serta memberikan dasar untuk penelitian lebih lanjut dalam pengembangan antimikroba baru yang berbasis *eco-enzyme*.

MATERI DAN METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: toples, lakban, plastik, kresek, gelas ukur, batang pengaduk, beaker glass, tabung reaksi, cawan petri, kaki tiga penangas, kompor spiritus, asbes, pH meter, incubator, autoklaf, timbangan, neraca analitik, mikro pipet, lidi, kapas, kasa steril, aluminium foil, *Laminar Air Flow* (LAF), rak tabung reaksi, jarum ose, dan *Bothdrop*.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian antara lain kulit buah lemon diperoleh dipenjual es lemon ditepi jalan di daerah Kota Tegal, kulit buah nanas dan sayur kangkung diperoleh di pasar pagi Kota Tegal, sedangkan gula pohan atau sisa tetapan dari gula tebu diperoleh di penjual gula pohan disekitar pabrik gula tebu Talang Kota Tegal. Kemudian bahan lainnya air, media *Nutrient Agar* (NA), media *Brain Heart Infusston* (BHI), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan aquadest.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah fermentasi campuran bahan organik dari kulit dan sayuran pada *eco-enzyme* sebagai uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi. *Eco-enzyme* tersebut dibuat menjadi 3 wadah dengan perbedaan campuran jenis bahan organik yang digunakan dan

masing-masing wadah difermentasikan selama 3 bulan. Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimen dengan menguji perbedaan jenis bahan organik yang digunakan dan mengukur zona penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Terdapat 4 perlakuan yaitu 3 wadah *eco-enzyme* dan aquadest sebagai kontrol negatif dengan 3 kali pengulangan, jumlah seluruhnya terdapat 12 unit percobaan.

Pembuatan *Eco-enzyme*

Perbandingan pembuatan *eco-enzyme* yaitu air:bahan organik:gula (10:3:1) (Dewi, 2021). Pembuatan *eco-enzyme* pada penelitian ini dibuat menjadi 3 wadah yang dibedakan dari banyaknya jenis bahan organik yang digunakan pada setiap wadah. Pembuatan *eco-enzyme* dilakukan dengan pencucian kulit buah lemon, kulit buah nanas, dan sayur kangkung, dikeringkan dan diiris kecil-kecil. Masing-masing bahan organik ditimbang, untuk wadah pertama hanya menggunakan kulit lemon sebanyak 1500 gram, wadah kedua menggunakan kulit lemon 750 gram dan kulit nanas 750 gram, sedangkan wadah ketiga menggunakan kulit lemon sebanyak 500 gram, kulit nanas 500 gram dan sayur kangkung sebanyak 500 gram. Semua bahan organik yang sudah ditimbang dimasukkan pada masing-masing wadah yang sudah ditandai dengan tanda *eco-enzyme* 1 untuk wadah pertama, *eco-enzyme* 2 untuk wadah kedua, dan *eco-enzyme* 3 untuk wadah ketiga. Gula molase ditambahkan sebanyak 9.000 ml dan air sebanyak 9.000 ml pada setiap wadahnya, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya wadah ditutup menggunakan tutup wadah yang sebelumnya sudah di lapiasi di atasnya dengan kresek dan dilakban, pastikan tertutup dengan rapat jangan sampai ada rongga udara yang masuk kedalam wadah hal ini dikarenakan mempengaruhi masa fermentasi *eco-enzyme*. Wadah diletakkan pada tempat yang tidak terkena langsung paparan cahaya matahari, tidak dekat aliran listrik dan jauhkan dari tempat yang lembab karena dapat mempengaruhi hasil fermentasi. Fermentasi *eco-enzyme* tersebut dilakukan selama 3 bulan, setelah 3 bulan panen *eco-enzyme* tersebut dengan cara menyaring *eco-enzyme* untuk memisahkan antara jamur dengan larutannya menggunakan kain flannel (Poompanvong, R., Joean, O., dan Joni, 2020).

Sterilisasi alat

Sterilisasi pada penelitian ini, dilakukan dengan alat autoklaf yang menggunakan uap dalam tekanannya. Prosedurnya menggunakan suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Alat-alat yang akan disterilisasi antara lain: cawan petri, tabung reaksi, jarum ose bundar dan lurus, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur, penjepit kayu, kapas dan lidi. Selain itu, media NA, BHI, dan MHA disterilisasi sebelum dipakai untuk pengujian (Tivani and Sari, 2021).

Media Bakteri Dibuat Dengan Cara

Proses pembuatan media NA dilakukan dengan menimbang serbuk NA instan sebanyak 1,5 gram, mengambil aquadest sebanyak 75 ml. Aquadest dipanaskan diatas kompor penangas, setelah mendidih masukkan NA instan aduk sampai larut dan mendidih. Kemudian pH media diukur (6,8-7,0). Media NA diangkat dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditutup menggunakan kasa dan kapas serta aluminium foil. Sterilisasi media NA dilakukan menggunakan autoklaf, lalu dimasukkan ke dalam pendingin udara dengan posisi dimiringkan.

Media BHI dibuat dengan cara menimbang bahan BHI instan sebanyak 2,78 gram dan 75 ml aquadest. Panaskan aquadest dan masukan BHI instan aduk sampai larut dan mendidih. Kemudian cek pH (6,8-7,0), angkat dan masukkan ke dalam tabung reaksi ditutup menggunakan kasa dan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil. Selanjutnya sterilisasikan media BHI kedalam autoklaf.

Pembuatan media MHA dilakukan dengan cara menimbang bahan MHA instan 11,4 gram dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 300 ml yang sebelumnya sudah dipanaskan hingga larut. Kemudian cek pH (6,8-7,0), masukkan kedalam cawan petridish tutup cawan petridish dan dibungkus menggunakan aluminium foil dengan rapat kemudian sterilisasikan dengan autoklaf. Media BHI dan MHA selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Tivani and Sari, 2021).

Peremajaan Kultur Bakteri

Peremajaan kultur bakteri dilakukan dengan cara mengambil sejumlah kecil kultur bakteri *S. aureus* yang sudah tumbuh pada satu biakan dan diambil menggunakan jarum ose steril dari kultur murninya dan dioleskan secara merata pada permukaan media dengan menggunakan loop steril. Loop steril digunakan untuk melakukan pengulangan pola garis-garis pada permukaan media. Hal tersebut dilakukan untuk memastikan bahwa setiap koloni bakteri yang terbentuk berasal dari satu sel bakteri (Hendri, Zakiah and Kurniatuhandi, 2023).

Pengujian Daya Hambat Bakteri

Pengujian daya hambat pertumbuhan bakteri dilakukan dengan metode difusi agar sumuran. Sumuran dibuat dengan cara membuat lubang pada media menggunakan *boor drop* sebanyak 4 lubang. Kemudian kapas lidi steril dicelupkan pada media BHI yang berisi isolat bakteri dan dioleskan pada media MHA. Penelitian ini menggunakan tiga sampel yaitu *Eco-enzyme* satu (hanya menggunakan kulit lemon sebagai campuran bahan organik pada *eco-enzyme*), *Eco-enzyme* dua (kulit lemon dan kulit nanas sebagai campuran bahan organik pada *Eco-enzyme*), dan *Eco-enzyme* tiga (kulit lemon, kulit nanas, dan sayur kangkung sebagai campuran bahan organik pada *eco-enzyme*). Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan aquadest steril. Masing-masing sebanyak 50 mikro menggunakan mikropipet pada setiap lubang sumuran yang sudah diberi label

penanda cawan petri. Rangkaian cara kerja tadi dilakukan sebanyak tiga kali replikasi diruang steril dengan api bunsen menyala serta menggunakan sarung tangan dan masker sehingga tidak terkontaminasi dengan bakteri lainnya. Proses selanjutnya menggunakan *incubator* dengan suhu 37°C selama 1-2 kali 24 jam. Setelah itu diamati kemudian mengukur daerah zona bening yang tampak pada media dengan diameter statistik dan diameter horizontal dengan satuan mm menggunakan jangka sorong (Oroh *et al.*, 2015). Diameter zona bening diukur menggunakan rumus (Welfalini Iet al., 2022).

$$\text{Diameter zona bening} = \frac{d_1 + d_2}{2} - X$$

Keterangan:

D₁: Diameter vertical zona bening pada media
D₂: Diameter horizontal zona bening pada media
X: Diameter lubang sumuran

Semakin lebar diameter zona bakteri maka semakin bagus bahan/sampel yang digunakan dalam menghambat bakteri. Adapun kategori zona hambat terhadap bakteri tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Kategori Zona Hambat Bakteri

Diameter	Kekuatan hambat
≤5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥21 mm	Sangat kuat

(Davis & Stout, 1971)

Analisis Data

Hasil dari penelitian eksperimen ini kemudian dianalisis menggunakan uji statistik dengan *one way analysis of varian* (ANOVA), uji homogenitas dan dilanjutkan uji *post-hoc bonfferoni* pada taraf 95% untuk perbandingan hasil uji diameter penghambatan pertumbuhan bakteri. Uji statistik ini sangat tepat digunakan dalam penelitian eksperimen karena data yang diolah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini untuk memahami bagaimana jenis bahan organik (*eco-enzyme*) mempengaruhi pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Selama proses fermentasi, kandungan bahan limbah kulit dan sayuran dimetabolisme oleh mikroorganisme. Proses fermentasi dalam penelitian ini menggunakan gula molase atau gula pohan. Proses fermentasi yang dimaksud dengan cepat dan efisien menghasilkan produk fermentasi dengan kualitas mikrobiologis dan fisik yang dikontrol oleh mikroorganisme pembusuk. Mikroorganisme yang terdapat pada sisa kulit buah dan sayuran akan mengeluarkan aroma khas karena mengandung asam yang nantinya berperan sebagai media pertumbuhan

bakteri, khamir, bahkan kapang (Suprayogi, Asra and Mahdalia, 2022).

Pembuatan *eco-enzyme*

Bahan-bahan untuk membuat *eco-enzyme* memiliki peran dalam proses fermentasi. Gula molase merupakan hasil samping dari produksi gula yang mengandung mikroorganisme aktif. Gula merah berfungsi sebagai substrat untuk fermentasi dan bahan organik yang kaya karbon untuk bakteri yang terlibat dalam proses fermentasi. Penggunaan gula merah sangat dianjurkan karena tidak mengandung sisa zat pemutih. Selain itu, gula merah memiliki energi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan gula putih, karena gula merah memiliki kandungan sukrosa yang lebih tinggi (84%) jika dibandingkan dengan gula pasir sehingga warna yang dihasilkan setelah fermentasi akan cenderung kecoklatan karena terjadinya reaksi yang diakibatkan oleh gula, protein dan asam dari bahan organik (Nururrahmani *et al.*, 2021). Hasil *eco-enzyme* setelah melalui proses fermentasi selama tiga bulan didapatkan hasil pada (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Pengamatan Organoleptis Pada *Eco-Enzyme*

<i>Eco-enzyme</i>	Warna	Bau	Jamur pitera
1	Kuning kecoklatan	Asam	Tidak ada
2	Coklat pekat	Asam segar	Ada
3	Coklat pekat	Asam segar	Ada



Gambar 1. Eco-enzyme 1 **Gambar 2.** Eco-enzyme 2



Gambar 3. Eco-enzyme 3

Penelitian ini menunjukkan bahwa setelah fermentasi selama 3 bulan, *eco-enzyme* mengalami perubahan warna pada setiap wadahnya. Wadah pertama menunjukkan warna agak kuning kecoklatan

Tabel 33. Hasil Diameter Zona Hambat *Eco-enzyme* pada Bakteri *staphylococcus aureus*

Pembagian kelompok	Diameter Zona Hambat Bakteri (Mm)			Rata-rata zona hambat	Aktivitas antibakteri
	I	II	III		
K1	0	0	0	0	-
K2	7,09	9,06	5,04	7,06	Sedang
K3	8,05	10,07	16,01	11,38	Kuat
K4	8,08	11,03	15,04	11,39	Kuat

Catatan:

K1: Kelompok Aquadest

K2: Kelompok *Eco-enzyme* dengan bahan organik kulit lemon

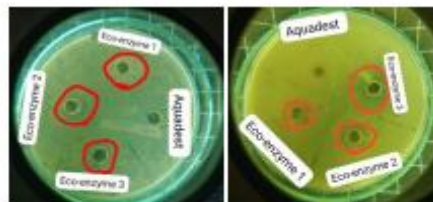
K3: Kelompok *Eco-enzyme* dengan bahan organik kulit nanas dan kulit lemon

K4: Kelompok *Eco-enzyme* dengan bahan organik kulit nanas, kulit lemon, dan kangkung

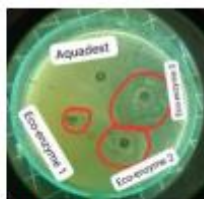
sementara wadah kedua dan ketiga cenderung berwarna lebih kecoklatan dengan adanya pertumbuhan jamur pitera serta *mama enzyme*. Perubahan warna ini karena dipengaruhi oleh proses fermentasi gula dan variasi jenis campuran bahan organik yang digunakan. Selain itu, *eco-enzyme* juga memiliki bau yang berbeda pada setiap wadahnya. Wadah pertama terdapat bau asam sementara wadah kedua dan ketiga memiliki aroma khas asam segar. *Eco-enzyme* dikatakan berhasil jika *eco-enzyme* memiliki bau yang kuat, aroma asam segar yang khas, dan kualitas air yang banyak (Nururrahmani et al., 2021). Semakin banyak jenis campuran bahan organik yang digunakan maka semakin banyak hasil *eco-enzymenya* (Poompanvong et al., 2020).

Uji aktivitas antibakteri *eco-enzyme*

Uji aktivitas antibakteri *eco-enzyme* terhadap bakteri *S. aureus*, menggunakan metode difusi cakram dengan tiga kali pengulangan pada setiap kelompok perlakuan. Hasil pengukuran diameter daerah hambat *eco-enzyme* menggunakan jangka sorong dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 4. Perlakuan 1 **Gambar 5.** Perlakuan 2



Gambar 6. Perlakuan 3

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dalam penelitian ini untuk melihat zona bening yang terbentuk dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan 3 kelompok perlakuan dari larutan *eco-enzyme*. Perbedaan jenis campuran bahan organik *eco-enzyme* yaitu, *eco-enzyme* satu, *eco-enzyme* dua, *eco-enzyme* tiga, dan aquadest sebagai kontrol negatif. Hasil yang didapat pada uji aktivitas antibakteri *eco-enzyme* terhadap *S. aureus* pada Tabel 3 diatas menunjukkan bahwa kelompok satu atau aquadest tidak ada zona hambat yang terbentuk. Sedangkan *eco-enzyme* dua hanya menggunakan satu campuran jenis bahan organik yaitu kulit lemon dapat menghambat bakteri namun dalam kategori sedang. Kemudian *eco-enzyme* dua dan tiga dapat menghambat bakteri dan terbentuk zona bening pada media atau adanya zona hambat terhadap bakteri serta termasuk dalam kategori kuat namun, lebih besar zona bening yang terbentuk pada *eco-enzyme* ke tiga.

Analisis *bonferroni Eco-Enzyme* Terhadap Bakteri *S. aureus*

Dari keempat larutan yang digunakan, dapat dikatakan *eco-enzyme* ketiga sangat efektif dalam menghambat bakteri karena menggunakan bahan organik lebih banyak. Hal tersebut karena banyaknya campuran jenis bahan organik pada *eco-enzyme* memberikan pengaruh terhadap penghambatan bakteri *S. aureus*. Jenis bahan organik memberikan sumbangan terhadap kandungan zat-zat terlarut dalam fermentasi. Menurut (Suprayogi et al., 2022), juga menyebutkan bahwa pengaruh terpenting dalam *eco-enzyme* adalah jenis bahan organik yang digunakan. Selain itu pada masing-masing campuran jenis bahan organik *eco-enzyme* itu sendiri mengandung senyawa antibakteri. Pada *eco-enzyme* ketiga menggunakan campuran bahan organik kulit lemon, kulit nanas dan sayur kangkung dari ketiga bahan tersebut mengandung asam organik yang dapat menghambat bakteri dan termasuk kedalam golongan kuat. Seperti kulit lemon didalamnya mengandung flavonoid dan alkaloid berperan sebagai antibakteri (Lase, 2019). Selain itu kulit nanas terdapat kandungan flavonoid dan bromin yang memiliki sifat antibakteri. Kandungan dari masing- masing kulit lemon dan kulit nanas tersebut dapat menghentikan

metabolisme pada bakteri akibat dari denaturasi protein dan menyebabkan kematian pada sel bakteri. Flavonoid merupakan komponen antibakteri yang potensial sehingga dapat menghentikan sintesis pada dinding sel bakteri (Husniah and Gunata, 2020). (Tivani and Sari, 2021) juga menyebutkan bahwa kulit nanas mempunyai sifat antibakteri yang kuat terhadap gram positif. Sedangkan sayur kangkung memiliki kandungan yang sama seperti kulit lemon dan kulit nanas, sayur kangkung selain mengandung flavonoid dan alkaloid terdapat kandungan saponin dan triterpenoid sebagai antibakteri (Baura *et al.*, 2021).

Selain itu sifat asam asetat dari pembentukan alkohol yang dihasilkan pada proses fermentasi menjadi alasan utama dalam menghambat bakteri *S. aureus* (Hendri, Zakiah and Kurniatuhadi, 2023). Dari penelitian (Sarabhai *et al.*, 2019), membuktikan gabungan bahan organik seperti kulit buah pada *eco-enzyme* menghasilkan konsentrasi asam asetat yang tinggi untuk menghambat bakteri. Apabila campuran bahan organik alami yang digunakan kulit buah dan sayur, maka perbandingan penggunaan kulit buah dan sayur 80% kulit buah: 20% sayuran (Rosandi, 2022). Selain itu, tidak ada batasan pada campuran bahan organik yang digunakan dalam pembuatan *eco-enzyme*, yang paling penting dalam pembuatannya adalah perbandingan bahan yang sesuai yakni 1:3:10. Selain itu, terdapat empat kriteria penggunaan campuran bahan organik pada *eco-enzyme*, yaitu tidak boleh dimasak, tidak boleh busuk, tidak boleh berlemak, dan tidak boleh berkulit keras (Poompanvong, R., Joean, O., dan Joni, 2020). Hal ini dapat mempengaruhi hasil dari *eco-enzyme*. Menurut (Welfalini *et al.*, 2022) semakin banyaknya jenis bahan organik dan konsentrasi yang digunakan memiliki kemampuan antibakteri, oleh karena itu semakin besar zona bening terbentuk. Faktor ini menjadikan zat aktif yang dihasilkan pada *eco-enzyme* akan meningkatkan efektifitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin banyaknya jenis campuran bahan organik yang digunakan pada *eco-enzyme*, maka akan zona hambat yang terbentuk semakin baik.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan yaitu campuran jenis bahan organik pada *eco-enzyme* yang dapat secara efektif menghalangi pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah campuran kulit lemon, kulit nanas, serta kangkung (*eco-enzyme* 3). Penelitian ini dapat dikembangkan lagi menjadi produk sabun *eco-enzyme*.

DAFTAR REFERENSI

Anon. 2023. *SIPSN - Sistem Informasi Pengelolaan Sampah Nasional*. [online] Available at: <<https://sipsn.menlhk.go.id/sipsn/public/dat>

a/komposisi> [Accessed 19 November 2023].

- Baura, V.A., Pareta, D.N., Tulandi, S.S. and Untu, S.D., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kangkung Air *Ipomoea aquatica* Forsk Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biofarmasetikal Tropis*, 4(1), pp.10–20. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v4i1.303>.
- Cayati, M.B., 2016. Pemanfaatan Sampah Organik Kulit Buah Dan Sisa Sayuran Sebagai "Eco Enzim" Untuk Pengaplikasian Pada Air Limbah Tahu. 01, pp.1–23.
- Dewi, D.M., 2021. Pelatihan Pembuatan Eco Enzyme Bersama Komunitas Eco Enzyme Lambung Mangkurat Kalimantan Selatan. *Jurnal Pengabdian ILUNG (Inovasi Lahan Basah Unggul)*, 1(1), pp.67–76.
- Hendri, H., Zakiah, Z. and Kurniatuhadi, R., 2023. Antibacterial Activity of Pineapple Peel Eco-enzyme (*Ananas comosus* L.) on Growth *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(3), pp.464–474. <https://doi.org/10.29303/jbt.v23i3.5272>.
- Husniah, I. and Gunata, A.F., 2020. Ekstrak Kulit Nanas sebagai Antibakteri. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(1), pp.85–90. <https://doi.org/10.37287/jppp.v2i1.51>.
- Junaidi, I.L., Wijaya, H., Shafira Jarief, R. and Angkasa, D., 2021. Pengaruh Proses Fermentasi dan Non-Fermentasi serta Pengeringan dengan Metode Spray Drying terhadap Mutu Serbuk Minuman Instan dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Warta Industri Hasil Pertanian*, 38(2), p.98. <https://doi.org/10.32765/wartaihp.v38i2.6986>.
- Karunia, A., 2016. (ANOVA : Analysis of Variance) (ANOVA : Analysis of Variance). 2, pp.1–20.
- Lase, N.T., 2019. Skrining dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. fil.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. [online] Available at: <<http://repository.helvetia.ac.id/id/eprint/2729>>.
- Nururrahmani, A., Hibatulloh, M.R., Nabila, R.A. and Djuarsa, P., 2021. Ekoenzim dari Berbagai Jenis Kulit Jeruk. *Jurnal of Higiene*, 9(1), pp.31–35.

BioEksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed
Volume 6, Nomor 1 (2024): 37-43

- Oroh, E.S., Posangi, J. and Wowor, V.N.S., 2015. Perbandingan Efektivitas Pasta Gigi Herbal Dengan Pasta Gigi Non Herbal Terhadap Penurunan Indeks Plak Gigi. *e-GIGI*, 3(2). <https://doi.org/10.35790/eg.3.2.2015.10020>
- Poompanvong, R., Joean, O., dan Joni, O., 2020. Pembuatan Eco-Enzyme. *Eco enzyme nusantara*, (November), pp.1–62.
- Rosandi, 2024. *Membuat Eco-Enzyme dan Cara Pengolahannya (2) - Indonesia*. [online] Available at: <https://prcfindonesia.org/membuat-eco-enzyme-dan-cara-pengolahannya-2/> [Accessed 21 March 2024].
- Sarabhai, S., Arya, A. and Arti Arya, C., 2019. Garbage enzyme: A study on compositional analysis of kitchen waste ferments. *The Pharma Innovation Journal*, [online] 8(4), pp.1193–1197.
- Sharfina, A.F. and Fevria, R., 2022. The Effect of Ecoenzyme on Plant Height and Leaf Number of Kangkung (*Ipomoea reptans* Poir) Hydroponically Cultivated. *Serambi Biologi*, 7(3), pp.211–215.
- Siliana, O., 2023. *Bahaya Sampah: Mengancam Lingkungan dan Kesehatan Manusia - Kompasiana.com*. [online] Available at: <https://www.kompasiana.com/osy49452/64716f124addee26a55d7652/bahaya-sampah-mengancam-lingkungan-dan-kesehatan-manusia> [Accessed 19 November 2023].
- Suprayogi, D., Asra, R. and Mahdalia, R., 2022. Analisis Produk Eco Enzyme Dari Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) DAN Jeruk BerasTAGI (*Citrus X sinensis* L.). *Jurnal Redoks*, 7(1), pp.19–27. <https://doi.org/10.31851/redoks.v7i1.8414>.
- Tivani, I. and Sari, M.P., 2021. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Nanas Madu dan Kulit Buah Pepaya terhadap *Staphylococcus aureus*. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 18(1), p.45. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v18i1.8030>.
- Welfalini, S.T., Suartha, I.N. and Sudipa, P.H., 2022. Uji Daya Hambat Eko-enzim terhadap Perumbuhan Bakteri *Streptococcus* spp. yang Diisolasi dari Jaringan Ektodermal Kulit Anjing. *Buletin Veteriner Udayana*, (158), p.169. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2023.v15.i02.p02>.



No : 016.06/FAR.PHB/IV/2024
Hal : Keterangan Praktek Laboratorium

SURAT KETERANGAN

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Siti Nurhaliza
NIM : 21080079
Judul Tugas Akhir : Pengaruh Jenis Bahan Organik Pada Pembuatan Eco-enzyme Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*

Benar – benar telah melakukan penelitian di Laboratorium Diploma III Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal.

Demikian surat keterangan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 26 April 2024
Ka. Program Studi Diploma III Farmasi
Politeknik Harapan Bersama



apt. Sari Prabandari, S.Farm., MM
NIPY. 08.015.223



POLITEKNIK HARAPAN BERSAMA

UPT Perpustakaan & Penerbitan

SURAT KETERANGAN HASIL UJI PLAGIASI

Yang bertanda tangan di bawah ini^{*)}:

Nama : Achmad Sofedin
 NIPY : 83.020.441
 Jabatan : Pustakawan

Menerangkan bahwa Laporan Tugas Akhir^{**)}:

Judul : PENGARUH JENIS BAHAN ORGANIK PADA PEMBUATAN
 ECO-ENZYME TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI
 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

yang ditulis oleh:

Nama Mahasiswa : SITI NURHALIZA
 NIM : 21080079
 Email : sitinurhaliza393.ichagmail.com

Telah dilakukan uji kesamaan (uji similarity) / uji plagiasi dengan hasil indikasi similaritas 28%
 Demikian keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Tegal, 22 Maret 2024
 Petugas Perpustakaan
 Politeknik Harapan Bersama.

Achmad Sofedin

Keterangan:

^{*)} Diisi oleh Petugas Perpustakaan Poltek Harber

^{**)} Diisi dengan pengetikan langsung oleh mahasiswa



Similarity Report ID: oia.27488.54771713

PAPER NAME

SITI NURHALIZA_21080079_FRM.docx

AUTHOR

Siti Nurhaliza

WORD COUNT

6937 Words

CHARACTER COUNT

45646 Characters

PAGE COUNT

50 Pages

FILE SIZE

1008.2KB

SUBMISSION DATE

Mar 19, 2024 1:06 PM GMT+7

REPORT DATE

Mar 19, 2024 1:07 PM GMT+7

● 28% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

- 28% Internet database
- 9% Publications database
- Crossref database
- Crossref Posted Content database

● Excluded from Similarity Report

- Submitted Works database
- Bibliographic material
- Small Matches (Less than 8 words)

CURRICULUM VITAE



Nama : Siti Nurhaliza
 NIM : 21080079
 Jenis Kelamin : Perempuan
 TTL : Tegal, 03 Juni 2003
 Alamat : Jalan Sultan Hasanudin, Gg.6 Rt04/Rw02, Kel. Keturen,
 Kec. Tegal Selatan, Kota Tegal
 No. Tlp/HP : 085290202627
 Email : sitinurhaliza393.icha@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

SD : SD Negeri 01 Keturen
 SMP : SMP Negeri 19 Kota Tegal
 SMA : SMA Negeri 4 Kota Tegal
 D-III : Politeknik Harapan Bersama

NAMA ORANG TUA

Ayah : Rosikin
 Ibu : Sri Mulyati

PEKERJAAN ORANG TUA

Ayah : Buruh harian lepas
 Ibu : ibu rumah tangga
 Alamat : Jalan Sultan Hasanudin, Gg.6 Rt04/Rw02, Kel. Keturen,
 Kec. Tegal Selatan, Kota Tegal
 Judul Penelitian : Pengaruh Jenis Bahan Organik Pada Pembuatan *Eco-enzyme* Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus*