

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *ECO-ENZYME* DARI BAHAN
LIMBAH BUAH NANAS (*Ananas comosus [L.] Merr*)
DENGAN PENAMBAHAN RAGI ROTI DAN RAGI TAPE PADA
BAKTERI *Escherichia coli***

Skripsi

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si) Dalam Ilmu Kimia



ABDUR ROZAQ AFIFI

NIM : 1908036036

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *ECO-ENZYME* DARI BAHAN
LIMBAH BUAH NANAS (*Ananas comosus [L.] Merr*)
DENGAN PENAMBAHAN RAGI ROTI DAN RAGI TAPE PADA
BAKTERI *Escherichia coli***

Skripsi

Diajukan Untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si) Dalam Ilmu Kimia

ABDUR ROZAQ AFIFI

NIM : 1908036036

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
SEMARANG**

2023

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Abdur Rozaq Afifi

NIM : 1908036036

Jurusan : Kimia

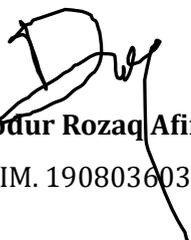
Menyatakan skripsi yang berjudul:

**Uji Aktivitas Antibakteri *Eco-enzyme* dari Bahan Limbah
Buah Nanas (*Ananas Comosus [L.] Merr*) dengan
Penambahan Ragi Roti dan Ragi Tape pada Bakteri
*Escherichia coli***

Secara keseluruhan merupakan hasil penelitian atau karya saya sendiri kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 26 Juni 2023

Pembuat pernyataan,



Abdur Rozaq Afifi
NIM. 1908036036



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang Telp.024-
7601295 Fax.7615387

PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Eco-enzyme dari Bahan Limbah Buah Nanas (*Ananas Comosus [L.] Merr*) dengan Penambahan Ragi Roti dan Ragi Tape pada Bakteri *Escherichia coli*

Penulis : Abdur Rozaq Afifi

NIM : 1908036036

Jurusan : Kimia

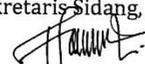
Telah diujikan dalam sidang *Munaqosah* oleh Dewan Penguji Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana dalam ilmu kimia.

Semarang, 21 Juli 2023

DEWAN PENGUJI

Ketua Sidang,

Sekretaris Sidang,


Mutista Hafshah, M.Pd. 
Mulyatun, S.Pd., M.Si.

NIP:199401022019032015 NIP:198305042011012008

Penguji I,

Penguji II,


Ana Mardiyah, M.Pd. 
Rais Nur Khatifah, M.Si.

NIP: 198905252019032015 NIP:199203042019032015

Pembimbing I,


Mutista Hafshah, M.Si.

NIP.199401022019032015

NOTA DINAS

Semarang, 26 Juni 2023

Kepada

Yth. Dekan Fakultas sains dan Teknologi UIN Walisongo

Di Semarang

Assalamu'alaikum wr. wb.

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan, dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **Uji Aktivitas Antibakteri *Eco-enzyme* dari Bahan Limbah Buah Nanas (*Ananas Comosus [L.] Merr*) dengan Penambahan Ragi Roti dan Ragi Tape pada Bakteri *Escherichia coli***

Penulis : Abdur Rozaq Afifi

NIM : 1908036036

Jurusan : Kimia

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada fakultas sains dan teknologi UIN Walisongo untuk diajukan dalam sidang Munaqosah

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Pembimbing I,

Mutista Hafshah, M. Si

NIP. 199401022019032015

ABSTRAK

Limbah rumah tangga masih menjadi permasalahan terbesar saat ini, mayoritas sumber sampah di Indonesia merupakan sampah hasil rumah tangga. pembuatan *eco-enzyme* termasuk salah satu upaya untuk mengelola limbah rumah tangga yang bisa dilakukan dalam skala rumah tangga dengan biaya yang murah dan cara yang mudah. *Eco-enzyme* diklaim memiliki manfaat sebagai antibakteri. untuk itu dilakukan uji antibakteri terhadap bakteri *E. coli*. Bakteri *E. coli* umumnya tidak berpotensi membahayakan dan dapat ditemukan dalam pencernaan manusia. *E. coli* dapat berubah menjadi patogen. *E. coli* dapat menimbulkan suatu gejala penyakit jika dapat menembus sistem pertahanan tubuh inangnya, beradaptasi, dan bertahan hidup di dalam tubuh manusia, kemudian mengganggu sistem kekebalan tubuh dan akhirnya menyebabkan penyakit.. metode uji antibakteri yang digunakan menggunakan metode difusi kertas cakram. Hasil pengujian menggunakan metode difusi kertas cakram didapatkan hasil diameter zona hambat pada larutan *eco-enzyme* tanpa ragi (EE-1) 2,263 mm, pada larutan *eco-enzyme* ragi roti (EE-2) 1,013 mm, dan pada larutan *eco-enzyme* ragi tape (EE-3) 1,188 mm. ketiga larutan sampel masuk dalam kategori daya hambat lemah.

Kata Kunci: *Eco-enzyme*, fitokimia, Antibakteri, *E. coli*

TRANSLITERASI

A. Konsonan

ا	A	ط	t}
ب	B	ظ	z}
ت	T	ع	'
ث	s\	غ	g
ج	J	ف	f
ح	h}	ق	q
خ	kh	ك	k
د	D	ل	l
ذ	z\	م	m
ر	R	ن	n
ز	Z	و	w
س	S	ه	h
ش	sy	ء	'
ص	s}	ي	y
ض	d}		

B. Vokal

أ	a
إ	i
أ	u

C. Bacaan Mad

a> = a panjang	i> = i panjang	u> = u panjang
----------------	----------------	----------------

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, serta hidayah Nya sehingga penulis diberi kemudahan dan kelancaran melaksanakan penelitian dan menyelesaikan laporan tugas akhir yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri *Eco-enzyme* dari Bahan Limbah Buah Nanas (*Ananas comosus*) dengan Penambahan Ragi Roti dan Ragi Tape pada Bakteri *Escherichia coli*”** di Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang dengan baik. Sholawat serta salam tak lupa dihaturkan kepada junjungan kita Nabi agung Muhammad SAW yang kelak diharapkan syafaatnya dihari kiamat nanti.

Tugas akhir merupakan salah satu mata kuliah wajib yang harus dipenuhi sebagai syarat memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang. Penulis menyadari bahwa proses penyusunan laporan tugas akhir ini tidak terlepas dari dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. H. Ismail, M. Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

2. Ibu Dr. Hj. Malikhatul Hidayah, ST., M. Pd. selaku Ketua Program Studi Kimia UIN Walisongo Semarang.
3. Ibu Mutista Hafshah, M.Si, selaku dosen pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, motivasi, saran, serta kritik yang sangat bermanfaat bagi penulis dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Ana Mardiyah, M.Si., Ibu Rais Nur lathifah, M.Si, dan Ibu Mulyatun, S.Pd., M.Si. selaku dosen penguji yang telah bersedia memberikan masukan, koreksi, dan arahan dalam menyelesaikan skripsi.
5. Bapak Kustomo, M.Sc, selaku wali dosen yang selalu memberikan pengarahan, semangat, dan dukungannya kepada penulis sehingga skripsi dapat terselesaikan.
6. Seluruh dosen jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang yang telah memberikan bimbingan, pendampingan, pengajaran, pengalaman, dan ilmu selama kuliah sehingga dapat membekali penulis dalam menyelesaikan skripsi ini
7. Bapak Zaenal Arifin, S.H.I, M. Ag. Sebagai guru dan orang tua kedua penulis yang telah memberikan bimbingan, arahan, pengajaran, dan pengasuhan kepada penulis.
8. Kedua orang tua penulis yang selalu memberikan motivasi, semangat, dukungan, doa dan kasih sayang.
9. Adik-adik penulis sebagai penyemangat dan inspirator.

10. Teman-teman kamar 6 yang telah memberikan hiburan, dukungan, semangat, dan doa.
 11. Semua rekan-rekan Kimia 2019 yang saling memberikan dukungan dan semangat satu sama lain dari awal kuliah hingga akhir.
 12. Teman-teman KKN MMK kelompok 49 telah memberikan hiburan dan semangat.
 13. Teman-teman Kelompok Studi Pasar Modal yang telah memberikan pengalaman dan pengetahuan baru.
 14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
- Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini belum mencapai kesempurnaan dalam arti yang sebenarnya. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan kritik serta saran yang membangun guna mendukung agar penulisan selanjutnya menjadi lebih baik. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya, Aamiin.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, 26 Juni 2023

Penulis

Abdur Rozaq Afifi

NIM. 1908036036

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
NOTA DINAS	iii
ABSTRAK	v
TRANSLITERASI	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang	1
B. Rumusan masalah	8
C. Tujuan	8
D. Manfaat	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
A. Kajian Teori	11
1. <i>Eco-enzyme</i>	11
2. Buah nanas	15
3. Ragi	19
4. Prinsip pembuatan <i>Eco-enzyme</i>	21
5. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	24
6. Aktivitas Antibakteri.....	26
7. Uji Aktivitas Antibakteri	27
B. Kajian Penelitian yang relevan	29

C. Hipotesis Penelitian	31
BAB III METODE PENELITIAN	33
A. Waktu dan Tempat Penelitian	33
B. Bahan dan Alat	33
1. Bahan yang digunakan.....	33
2. Alat yang digunakan	33
C. Prosedur Penelitian	34
1. Pembuatan <i>Eco-enzyme</i>	34
2. Karakterisasi <i>eco-enzyme</i>	35
3. Uji aktivitas antibakteri	38
BAB IV ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN	41
A. Pembuatan <i>Eco-enzyme</i>	41
B. Karakteristik <i>Eco-enzyme</i>.....	44
1. Uji Fitokimia	44
2. Uji pH	53
3. Uji Kadar Alkohol	54
4. Uji Kadar Asam Asetat	55
C. Uji Antibakteri.....	57
1. Pembuatan Media NA	57
2. Peremajaan Bakteri	57
3. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5.....	58
4. Pembuatan suspensi Bakteri.....	59
5. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kertas Cakram	60
BAB V Penutup	65

A. Simpulan	65
B. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN.....	77
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	87

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman dan buah Nanas Madu (Aji, 2023).....	15
Gambar 2. 2 Ragi tape.....	19
Gambar 2. 3 Ragi roti.....	20
Gambar 2. 4 Struktur Antigenik <i>Escherichia coli</i> (Champoux et al., 2004).....	25
Gambar 4. 1 Larutan <i>eco-enzyme</i> EE-1	44
Gambar 4. 2 Larutan <i>Eco-enzyme</i> sebelum uji fitokimia (a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid.....	45
Gambar 4. 3 Hasil uji fitokimia EE-1 (a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid.....	46
Gambar 4. 4 Hasil uji fitokimia EE-2 (a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid.....	46
Gambar 4. 5 Hasil uji fitokimia EE-3 (a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid.....	47
Gambar 4. 6 Reaksi uji fenolik (Sugiarna et al., 2019).....	48
Gambar 4. 7 Reaksi uji flavonoid (Fransina et al., 2019).....	49
Gambar 4. 8 Reaksi uji tanin (Oktavia & Sutoyo, 2021)	51
Gambar 4. 9 Reaksi uji alkaloid (Parbuntari et al., 2018)	52
Gambar 4. 10 Uji pH EE-2.....	54
Gambar 4. 11 Uji kadar alkohol menggunakan alkoholmeter EE-1	55
Gambar 4. 12 Peremajaan bakteri <i>E. coli</i>	58
Gambar 4. 13 (a) Mc Farland 0,5 (b) Suspensi Bakteri	60
Gambar 4. 14 Uji Antibakteri replikasi 1.....	63

Gambar 4. 15 Uji Antibakteri replikasi 2..... 63

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Formulasi <i>eco-enzyme</i>	35
Tabel 4. 1 Hasil uji fitokimia	44
Tabel 4. 2 Hasil uji pH.....	53
Tabel 4. 3 Hasil uji Alkohol.....	55
Tabel 4. 4 Hasil uji kadar asam asetat	57
Tabel 4. 5 Uji antibakteri	64

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Limbah rumah tangga termasuk salah satu sumber sampah terbesar di Indonesia, sampah yang tidak dikelola dengan benar berpotensi menimbulkan berbagai macam dampak buruk, tidak hanya untuk alam tetapi juga bagi makhluk hidup. Menurut informasi data dari Sistem Informasi Pengelolaan Sampah Nasional (SIPSN) yang dinaungi Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, pada tahun 2020 sekitar 39,81% dari total sampah berasal dari rumah tangga, sementara limbah pasar menyumbang sekitar 17,91%, limbah dari kawasan industri mencapai 13,46%, limbah dari sektor perniagaan sebesar 8,04%, limbah dari masyarakat umum sekitar 4,79%, sedangkan limbah dari perkantoran mencapai 3,53%, dan sisanya, yaitu 13,18%, berasal dari sumber lain. Selain itu, komposisi sampah organik diperkirakan mencapai sekitar 60% dan sampah anorganik sekitar 40%. Berdasarkan data tersebut, pengolahan limbah khususnya limbah rumah tangga sangat diperlukan untuk mengatasi sampah yang ada di Indonesia

(Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2021).

Dampak limbah rumah tangga, utamanya limbah makanan memiliki banyak efek negatif jika tidak dikelola dengan benar. Beberapa dampak buruk dari limbah makanan ini meliputi aroma yang tidak sedap disebabkan proses pembusukan limbah, potensi penyumbatan saluran air jika dibuang secara tidak benar, risiko ledakan, akumulasi sampah yang dapat memicu masalah baru seperti banjir, kondisi lingkungan yang tidak sehat, penularan penyakit, dan berbagai masalah lainnya (Arun & Sivashanmugam, 2015).

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ
الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

“Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan perbuatan tangan manusia. (Melalui hal itu) Allah membuat mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka agar mereka kembali (ke jalan yang benar)” (Q.S. Ar-Ruum(30):41).

Ayat ini menjelaskan bahwa telah terjadi *al-fasad* di daratan dan lautan. *Al-Fasad* merujuk kepada segala bentuk pelanggaran terhadap sistem atau

hukum yang telah diciptakan oleh Allah, yang dapat diartikan sebagai “perusakan”. Perusakan tersebut dapat berupa pencemaran alam sehingga tidak lagi layak untuk dihuni, atau bahkan penghancuran alam sehingga tidak dapat dimanfaatkan lagi. misalnya, musnahnya flora dan fauna di daratan serta kerusakan biota laut di lautan. Selain itu, termasuk dalam *al-fasad* adalah pembunuhan, pemberontakan, perampokan, perompakan, dan tindakan lain yang serupa.

Perusakan tersebut terjadi akibat perilaku manusia, seperti eksploitasi alam yang berlebihan, percobaan senjata, peperangan, dan tindakan lain yang merugikan ekosistem. Orang yang memiliki keimanan yang kuat dan tulus akan menghindari perilaku-perilaku tersebut, karena mereka menyadari bahwa segala perbuatan mereka akan dihisab di hadapan Allah SWT.

Allah SWT menegaskan dalam ayat tersebut bahwa tidak semua dampak negatif perusakan alam dirasakan secara langsung oleh manusia, melainkan hanya sebagian kecil dari dampak tersebut. Beberapa dampak buruk lainnya telah diatasi Allah. Allah SWT telah menciptakan mekanisme alam untuk memitigasi atau memperbaiki kerusakan yang terjadi. Hal ini mencerminkan kasih sayang Allah terhadap manusia.

Jika Allah tidak menyediakan sistem alam untuk mengatasi kerusakan tersebut, manusia akan mengalami konsekuensi yang lebih parah, dan alam semesta ini akan mengalami kerusakan yang tak teratasi sehingga manusia tidak dapat lagi menghuninya atau mengambil manfaat darinya dan mengakibatkan kehancuran (Departemen Agama RI, 2010).

Pembuatan *eco-enzyme* merupakan strategi untuk mengurangi kerusakan alam akibat sampah. Pembuatan *eco-enzyme* dihasilkan melalui pengolahan limbah rumah tangga yang efisien dan ekonomis. Dr. Rosukon Pompanvong adalah orang yang pertama kali memperkenalkan *eco-enzyme*. *Eco-enzyme* merupakan sejenis senyawa organik yang dihasilkan secara alami melalui sintesis protein nabati, mineral, dan hormon juvenil. Bahan-bahan tersebut akan difermentasi untuk membuagt *eco-enzyme* yang saling mempengaruhi dan membentuk ekosistem enzimatik yang kompleks namun stabil. *Eco-enzyme* memiliki manfaat penghambatan aktivitas mikroorganismе berbahaya, terutama patogen dan bakteri jahat, serta membantu pertumbuhan tanaman dengan sehat. Penggunaan *eco-enzyme* di setiap rumah tangga berpotensi mengatasi masalah sampah rumah tangga dan mengurangi polusi.

Selain itu, *eco-enzyme* juga memiliki banyak keunggulan lain, seperti pada bidang pertanian i sebagai pupuk alami, pestisida alami, dan peningkatan proses fotosintesis (Win, 2011).

Eco-enzyme merupakan cairan berwarna coklat, beraroma asam segar, dengan pH asam (Viza, 2022). *Eco-enzyme* dihasilkan melalui fermentasi limbah organik buah atau sayuran tanpa lemak dengan penambahan molase dan air. *Garbage enzyme* atau *eco-enzyme* yang dihasilkan melalui fermentasi diuji kandungan enzimnya. Hasilnya menunjukkan bahwa *garbage enzyme* memiliki enzim protease, lipase dan amilase (Arun & Sivashanmugam, 2015). Cara pembuatan *eco-enzyme* murah dan mudah, tetapi waktu yang diperlukan cukup lama yaitu sekitar 3 bulan, dengan penambahan ragi diharapkan dapat mempercepat pembuatan *eco-enzyme*.

Hasil penelitian Rahayu et al., (2021) menunjukkan bahwa *eco-enzyme* dengan penambahan ragi *Saccharomyces cerevisiae* untuk pembuatan cairan disinfektan alami memiliki waktu optimal proses pembuatan 8-10 hari dengan kadar alkohol 60-70% dan pH di bawah 4. Kombinasi *eco-enzyme* yang berasal dari sampah organik domestik dan bunga kamboja (*Plumeria alba*) memiliki kemampuan untuk mencegah

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat yang sangat kuat, dengan zona hambat antara 31,85-34,41 mm.

Produk *eco-enzyme* dapat dimanfaatkan sebagai disinfektan, *hand-sanitizer*, pembersih lantai, sabun, dan *detergent* karena memiliki aktivitas antibakteri atau anti mikroba. Antimikroba adalah senyawa biologis atau kimia yang dapat membunuh bakteri atau jamur atau membatasi pertumbuhannya. Berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui mengandung bahan aktif yang dapat mencegah mikroorganisme patogen (Mawaddah, 2008 dalam (Yanis et al., 2020).

Bakteri *E. coli* termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif, secara umum bakteri *E. coli* tidak berpotensi membahayakan dan hidup di dalam sistem pencernaan manusia. *E. coli* dapat berubah menjadi patogen ketika mendapat tambahan gen virulensi dari mikroorganisme lain melalui berbagai macam mekanisme perpindahan genetik. *E. coli* memiliki potensi untuk menyebabkan suatu gejala penyakit jika dapat menembus sistem pertahanan tubuh inangnya, beradaptasi, dan bertahan hidup di dalam tubuh manusia, kemudian mengganggu sistem kekebalan tubuh dan akhirnya menyebabkan penyakit. Umumnya

gejala klinis akibat dari strain *E. coli* patogen terdapat tiga tipe infeksi, yang pertama infeksi pada saluran pencernaan yang mengakibatkan diare, yang kedua infeksi saluran kemih, dan yang ketiga meningitis neonatal (W. P. Rahayu et al., 2018).

Berdasarkan latar belakang di atas penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan *eco-enzyme* yang dihasilkan dari limbah buah nanas dengan variasi penambahan ragi. Ragi yang digunakan terdiri dari ragi roti dan ragi tape. Ragi roti hanya memiliki kandungan mikroba *Saccharomyces cerevisiae*, sedangkan ragi tape mengandung kapang (*Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*, *Aspergillus*, dan *Amylomyces rouxii*), khamir (*Saccharomyces cereviceae*, *Saccharomycopsis malanga*, *Candida utilis* *Pichia burtonii*, dan *Saccharomycopsis fibuligera*) dan bakteri (*Bacillus sp.*, *Pediococcus sp.*, dan *Acetobacter*) (R. Islami, 2018). Penggunaan bahan kulit nanas karena mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada ekstraknya. Ekstrak kulit pisang dan kulit nanas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*. Hasil percobaan menunjukkan diameter zona hambat rata-rata yang paling kecil untuk bakteri *E. coli* adalah sekitar 7,46 mm dan 7,7 mm pada konsentrasi

5000 ppm. Sedangkan, pada konsentrasi 40000 ppm, diameter zona hambat terbesar tercatat, yaitu 12,03 mm untuk ekstrak kulit nanas dan 11,06 mm untuk ekstrak kulit pisang (Fatmawati, 2019).

Inovasi pada penelitian ini yaitu penggunaan sampel, penambahan ragi, dan waktu fermentasi. Umumnya waktu fermentasi *eco-enzyme* yang digunakan selama 3 bulan, dengan penambahan ragi diduga dapat mempercepat proses fermentasi menjadi lebih cepat sehingga pada penelitian ini waktu fermentasi yang digunakan berkisar antara 11-30 hari.

B. Rumusan masalah

1. Bagaimana karakteristik *eco-enzyme* dari limbah buah nanas dengan penambahan ragi roti dan ragi tape?
2. Berapa zona hambat aktivitas antibakteri *eco-enzyme* dari limbah buah nanas dengan penambahan ragi roti dan ragi tape terhadap bakteri *E. coli*?

C. Tujuan

1. Untuk mengetahui karakteristik *eco-enzyme* dari limbah buah nanas dengan penambahan ragi roti dan ragi tape.

2. Untuk mengukur zona hambat aktivitas antibakteri *eco-enzyme* dari limbah buah nanas dengan penambahan ragi roti dan ragi tape terhadap bakteri *E. coli*.

D. Manfaat

Penelitian ini diharapkan mampu menjadi salah satu bentuk pengolahan limbah sampah organik sehingga dapat mengurangi permasalahan sampah yang ada di Indonesia, khususnya limbah rumah tangga sebagai penyumbang sampah terbesar. Hasil dari uji aktivitas antibakteri dari bahan *eco-enzyme* diharapkan dapat dikembangkan sebagai bahan dasar produk antibakteri yang ramah lingkungan dan dapat menunjang perekonomian masyarakat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Teori

1. *Eco-enzyme*

Enzim adalah molekul protein yang mengkatalisis reaksi kimia. Mereka bertindak sebagai katalis biologis dan hanya mengkatalisis molekul tertentu (substrat). Enzim selektif untuk substratnya dan hanya mengkatalisis satu atau sejumlah kecil reaksi kimia di antara banyak kemungkinan. Namun mereka penting secara fisiologis karena mereka mempercepat, setidaknya 1000 kali lipat, laju reaksi dengan mengurangi jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk kompleks reaktan, yang dikenal sebagai kompleks keadaan transisi, yang kompeten untuk menghasilkan produk reaksi (Nazim et al., 2017).

Enzim memiliki kelebihan dibandingkan dengan katalis kimia konvensional, diantaranya enzim bersifat *biodegradable* atau dapat diurai dengan mudah oleh alam karena terdiri dari sebagian besar protein dan peptida (Nazim & V., 2017).

Eco-enzyme ditemukan oleh Dr. Rosukon dari Thailand, *eco-enzyme* dihasilkan melalui proses fermentasi campuran gula, limbah buah, dan air dengan perbandingan 1: 3: 10. Proses fermentasi ini terjadi hasil dari aktivitas enzim yang ada pada bakteri atau jamur. Penggunaan cairan *eco-enzyme* sebagai disinfektan karena memiliki kandungan asam asetat dan alkohol. Semakin lama waktu fermentasi karena *eco-enzyme* dengan bantuan ragi *Saccharomyces cerevisiae*, kandungan alkohol yang dihasilkan meningkat, sementara nilai pH menurun. Waktu optimal untuk membuat *eco-enzyme* dengan standar pembuatan disinfektan adalah 8-10 hari, dimana fermentasi telah menghasilkan kandungan alkohol 60-70% dan pH *eco-enzyme* kurang dari 4,0 (Rahayu et al., 2021).

Eco-enzyme adalah produk hasil fermentasi limbah organik, gula, dan air. Penggunaan mikroorganisme tertentu seperti ragi dan bakteri dapat digunakan untuk mempercepat reaksi biokimia (Ervinta et al., 2020). *Garbage enzyme* atau *eco-enzyme* yang dihasilkan melalui fermentasi telah diuji aktivitas biokatalitiknya. Hasil penelitian menunjukkan *Garbage enzyme* memiliki aktivitas protease, amilase dan lipase serta mampu

mengurangi jumlah total padatan (TS) sebanyak 37,2%, padatan tersuspensi (TSS) sebanyak 38,6%, dan menghilangkan 99% patogen dalam lumpur aktif limbah susu (Arun & Sivashanmugam, 2015).

Pembuatan *eco-enzyme* memiliki efek yang positif bagi ekosistem global juga bermanfaat dari segi ekonomi. Pembuatan *eco-enzyme* berdampak pada lingkungan melalui pelepasan gas O_3 , atau lebih dikenal sebagai ozon, yang terjadi selama proses fermentasi yang dimulai pada hari pertama. Ozon ini memiliki peran yang krusial di lapisan stratosfer untuk mengurangi konsentrasi gas rumah kaca dan logam berat yang terperangkap di atmosfer. Selama proses fermentasi, *eco-enzyme* juga menghasilkan gas CO_3 dan NO_3 yang memiliki peranan penting bagi tanah sebagai sumber nutrisi untuk tanaman (Larasati et al., 2020).

Eco-enzyme juga berfungsi sebagai anti-bakteri, agen anti-jamur, dan insektisida. *Eco-enzyme* dalam bidang peternakan, digunakan sebagai disinfektan alami untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme berbahaya, menghilangkan bau tidak sedap, dan sesuai dengan pakan tambahan untuk meningkatkan kekebalan ternak dan meningkatkan kualitas karkas (Ervinta et al., 2020).

Berdasarkan penelitian (Vama & Cherekar, 2020) *eco-enzyme* ketika dilarutkan dalam air dan disiramkan pada media tanaman tidak mengakibatkan kerusakan pada tanaman serta tidak memiliki efek toksik pada manusia, sedangkan beberapa bahan kimia sintetis memiliki dampak yang buruk pada manusia dan lingkungan jika tidak dikelola dengan benar. Adanya mikroba alami pada *eco-enzyme* dapat mengaktifkan biologi tanah dan membantu peningkatan pertumbuhan tanaman. Selain itu juga dapat membersihkan dan mengusir hama.

Kulit buah telah menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap berbagai mikroorganisme, termasuk *Enterococcus faecalis*. Setelah melalui proses fermentasi, sifat antibakteri dari kulit buah tersebut semakin meningkat karena senyawa organiknya terurai, menghasilkan beragam metabolit sekunder yang dikenal sebagai senyawa bioaktif atau fitokimia (Mavani et al., 2020).

2. Buah nanas



Gambar 2. 1 Tanaman dan buah Nanas Madu (Aji, 2023)

Nanas merupakan tanaman dari daerah tropis dan berjenis monokotil. Bentuk tanaman dan buah nanas seperti pada Gambar 2. 1. Tinggi dan lebar tanaman berkisar antara 1-2 meter. Daunnya tersusun secara spiral dan pada ujung terminalnya terdapat bunga yang kemudian menghasilkan buah yang dapat dimakan. Panjang batang di tengahnya berukuran sekitar 25–50 cm. *Ananas comosus* termasuk keluarga Bromeliaceae yang selanjutnya diklasifikasikan menjadi tiga subfamili yaitu Tillandsioideae, Bromeliodeae, dan Pitcarniodeae (Wali, 2019).

Klasifikasi tumbuhan Nanas Madu menurut Rizka & Anggita (2017) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Sub Kerajaan : Tracheobionta
Sub Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida
Sub kelas : Zingiberidae
Bangsa : Bromeliales
Suku : Bromeliaceae
Marga : *Ananas*
Jenis : *Ananas comosus (L.) Merr*

Komposisi utama dari nanas yaitu 81%–86% berupa air dan 13%–19% padatan. Kandungan dari padatan nanas terdiri dari sekitar 85% karbohidrat, sebagian besar sukrosa, glukosa, dan fruktosa, dengan 15% sisanya terdiri dari nutrisi penting lainnya. nutrisi penting tersebut diantaranya potassium, kalsium, magnesium, fosfor, protein, vitamin C, B1, B6, tembaga, folat, glikan, serat, dan elemen penting lainnya (Wali, 2019).

Secara historis, Nanas telah digunakan untuk tujuan pengobatan di berbagai daerah. Seiring berjalannya waktu semakin banyak informasi yang terungkap tentang nilai gizi dan kandungan yang

bermanfaat pada nanas, salah satu kandungan dari nanas adalah enzim bromelain. Bromelain pada nanas pertama kali teridentifikasi pada abad ke-19. Bromelain dapat ditemukan pada buah maupun batang nanas. (Wali, 2019). Bromelain termasuk dalam kelas protease yang juga dikenal sebagai proteinase atau peptidase, sekelompok enzim yang mengkatalisis reaksi proteolitik dimana protein diuraikan menjadi polipeptida yang lebih kecil atau asam amino tunggal. *Crude bromelain* (ekstrak mentah nanas) mengandung berbagai sistein endopeptidase dan komponen lainnya, seperti karbohidrat, selulase, peroksidase, fosfatase, glukosidase, glikoprotein, ribonuklease, penghambat protease dan kalsium yang terikat secara organik (Jančić & Gorgieva, 2022). Enzim bromelain mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan penghambatan yang kuat (Nurnaningsih & Laela, 2022).

Limbah kulit nanas dalam kehidupan sehari-hari masih jarang dimanfaatkan, sebagian besar kulit nanas dianggap sebagai limbah dan hanya dibuang sebagai sampah, padahal berbagai penelitian menunjukkan beberapa potensi untuk

dimanfaatkan lebih lanjut. Berbagai studi ilmiah telah mengungkapkan bahwa kulit nanas mengandung vitamin C, flavonoid, dan karotenoid. Salah satu penelitian yang melakukan uji daya antibakteri dari ekstrak kulit nanas diantaranya penelitian dari Ahamed et al., (2016) yang melakukan penelitian mengenai Aktivitas antibakteri ekstrak Nanas terhadap bakteri *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiellapneumoniae* dan *Staphylococcus aureus* Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri tersebut, dengan diameter zona hambat masing-masing 26 mm, 20 mm, 22 mm dan 23 mm.

Sifat antimikroba dari ekstrak kulit jeruk dan nanas disebabkan oleh adanya beberapa senyawa fitokimia aktif seperti alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, saponin dan tannin. Bromelain dari ekstrak nanas terbukti efektif membunuh *Enterococcus faecalis* dengan mengganggu komponen peptidoglikan dan polisakarida membran sel bakteri. Ekstrak kulit nanas dan jeruk Ketika diuji erhadap bakteri patogen yaitu; *Xanthomonas*, *Bacillus subtilis*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* memiliki zona hambat yang

cukup kuat berkisar antara 19 -27 mm. (Gunwantrao et al., 2016).

3. Ragi



Gambar 2. 2 Ragi tape

Ragi tape berbentuk bulat, berwarna putih tulang, berbau khas ragi tape, bentuk ragi tape seperti Gambar 2. 2. Ragi tape memiliki kandungan kapang (*Rhizopus sp.*, *Mucor sp.*, *Aspergillus*, dan *Amylomyces rouxii*), khamir (*Saccharomyces cereviceae*, *Saccharomycopsis malanga*, *Candida utilis* *Pichia burtonii*, dan *Saccharomycopsis fibuligera*) dan bakteri (*Bacillus sp.*, *Pediococcus sp.*, dan *Acetobacter*). Mikroorganisme di dalam ragi tape bekerja secara sinergis. *Aspergillus* berperan dalam mencerna amilum untuk disederhanakan menjadi glukosa, sementara *Candida sp* dan *Saccharomyces sp* mengubah gula hasil dari pemecahan amilum oleh *Aspergillus*

menjadi alkohol dan senyawa organik lainnya. selanjutnya *Acetobacter* mengonversi alkohol menjadi asam asetat atau dikenal dengan asam cuka (Islami, 2018). Umumnya fungi dibedakan menjadi 2 golongan yaitu: Khamir dan Kapang. Khamir adalah jenis fungi yang memiliki sel tunggal (uniseluler) dan tidak memiliki filamen. Sedangkan Kapang merupakan fungi multiseluler yang berfilamen atau memiliki miselium dan pertumbuhannya pada makanan mudah untuk diamati, umumnya berwarna putih (Sofyan, 2023)



Gambar 2. 3 Ragi roti

Ragi roti berbentuk silinder kecil berwarna coklat susu. Ragi roti dapat diklasifikasikan menjadi tiga jenis yang berbeda, yaitu ragi basah, ragi instan, dan ragi koral. Ragi basah (*fresh yeast*) yaitu ragi yang memiliki kandungan sekitar 70% air dan memerlukan penyimpanan pada suhu antara 2-4°C.

Contohnya merk dagang *Fleishcmann's* dan *Red Star*. Yang kedua yaitu ragi koral (*active dry yeast*) yaitu ragi yang memiliki kandungan sekitar 7% air dan memiliki waktu simpan cukup lama. Contoh merk dagang ragi ini yaitu *Rize*, *Fleishcmann's*, dan *Red Star*. Yang ketiga yaitu Ragi instan (*instant yeast*) yaitu ragi yang memiliki kandungan air sekitar 1-2% dan memiliki ketahanan daya simpan yang lama. Contoh merk dagang : Fermipan dan Saf instan (Jayanti, 2011). Gambar 2. 3 yaitu ragi roti yang merupakan salah satu contoh ragi instan.

Ragi roti hanya memiliki kandungan mikroba *S. cerevisiae*, ragi roti berfungsi untuk fermentasi glukosa pada tepung dan mengubahnya menjadi etanol dan karbon dioksida. Komposisi ragi roti yaitu ragi (*S. cerevisiae*) dan pengemulsi (sorbitan monostearate) (Jayanti, 2011).

4. Prinsip pembuatan *Eco-enzyme*

Prinsip pembuatan *eco-enzyme* menggunakan proses fermentasi. Sisa makanan maupun buah-buahan difermentasi dengan penambahan gula dan air yang dihomogenkan dan disimpan dalam wadah yang kedap udara selama beberapa waktu. *Eco-enzyme* dibuat dari molase, limbah buah, dan air dengan perbandingan 1:3:10. Umumnya *eco-enzyme*

dibuat dengan didiamkan pada tempat tertutup selama 3 bulan. *Eco-enzyme* memiliki berbagai macam manfaat, diantaranya sebagai bahan disinfektan, insektisida, hand sanitizer, penjernih air, pupuk, pembersih buah, pembersih lantai, pembersih toilet, pembersih kaca, kontributor ozon ke atmosfer, pembersih pakaian, pembersih tangan, dan sebagainya (Rijal et al., 2021).

Eco-enzyme yang terfermentasi dengan baik cairannya akan mengalami perubahan warna menjadi berwarna kecoklatan dan membentuk lapisan putih di permukaan. Sebaliknya, jika tidak terfermentasi dengan baik maka cairan akan berubah menjadi berwarna hitam, berjamur, dan berbau busuk. Selain itu, nilai pH *eco-enzyme* di bawah 4 setelah tiga bulan menandakan bahwa *eco-enzyme* telah terfermentasi dengan baik (Win, 2011). Hasil penelitian Islami, (2022) menunjukkan bahwa kadar asam asetat tertinggi dalam *eco-enzyme* yang dihasilkan dari bahan kulit jeruk terjadi pada fermentasi selama 100 hari, dengan persentase mencapai 5,53% dari bahan kulit jeruk, sedangkan kadar terendah tercatat pada *eco-enzyme* campuran, yaitu sekitar 3,32%. pH *eco-enzyme* mencapai tingkat keasaman maksimum

pada periode fermentasi 100 hari, dengan nilai pH sekitar $\pm 3,5$.

Karakteristik *eco-enzyme* dari jambu biji bersifat asam dengan pH 3,36. *Eco-enzyme* memiliki kandungan NH_3 1,4 ppm, PO_4 11,2 ppm, dan COD tinggi, 116.800 mg/L (Bahari & Wikaningrum, 2022). *Garbage enzyme* dari limbah dapur (kulit buah dan sayuran) bersifat asam dengan kisaran pH 3,3-4,5 berwarna coklat muda sampai coklat tua dan memiliki sedikit kekeruhan yang bervariasi tergantung bahan yang digunakan. *Garbage enzyme* dari limbah dapur (kulit buah dan sayuran) memiliki berbagai zat organik. Hasil analisis menunjukkan kadar protein dari limbah kulit buah $4,23 \pm 0,26$ mg/mL dan dari limbah sayuran $4,47 \pm 0,48$ mg/mL, karbohidrat dari limbah kulit buah $14,29 \pm 0,22$ mg/mL limbah sayur $13,86 \pm 0,49$ mg/mL, asam asetat limbah kulit buah $4,2 \pm 0,42$ g/mL limbah sayur $5,4 \pm 0,28$ g/mL dan alkohol limbah kulit buah 0,18 mL/mL limbah sayur 0,13 mL/mL. Hasil analisis menunjukkan adanya enzim Amilase, Lipase, Protease dan Papain dalam jumlah yang cukup besar dalam sediaan ini (Sarabhai et al., 2019).

5. Bakteri *Escherichia coli*

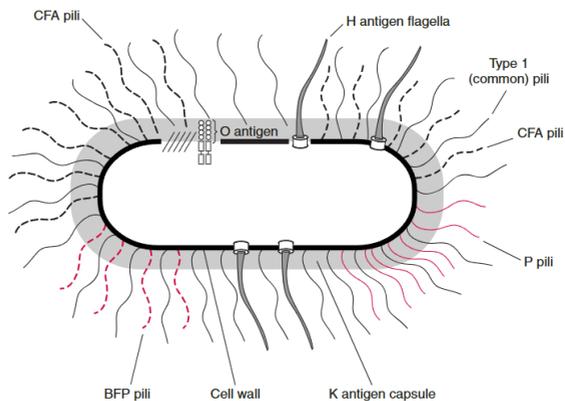
Theodor Escherich pada tahun 1985 menemukan bakteri *E. coli*, dan penamaan bakterinya merujuk kepada penemunya. Bakteri *E. coli* memiliki bentuk berupa batang dengan diameter sekitar 0,5 mikrometer (μm) dan panjang sekitar 2 mikrometer (μm). Volume sel *E. coli* yaitu antara 0,6-0,7 mm^3 . Bakteri ini termasuk dalam golongan bakteri gram negatif dan mampu bertahan hidup pada rentang suhu antara 20 hingga 40 derajat Celsius ($^{\circ}\text{C}$), dengan suhu optimal pertumbuhannya adalah 37°C (Sutiknowati, 2016).

Menurut Hammadi & Almousawi, (2021) bakteri *E. coli* dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i> ,
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Famili	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Gambar 2. 4 merupakan Struktur antigenik *Escherichia coli*. Antigen O terkandung dalam unit polisakarida berulang dari lipopolisakarida (LPS) di membran luar dinding sel. Antigen H adalah protein

flagel. Antigen K adalah kapsul polisakarida yang ada pada beberapa strain. Kebanyakan *E. coli* memiliki pili seperti rambut tipe 1 (umum) yang memanjang dari permukaan. Beberapa *E. coli* memiliki P khusus, antigen faktor kolonisasi (CFA), atau bundel pembentuk pili (BFP), serta pili tipe 1. (Champoux et al., 2004)



Gambar 2. 4 Struktur Antigenik *Escherichia coli* (Champoux et al., 2004)

Umumnya *E. coli* dapat ditemukan pada saluran pencernaan hewan dan manusia dan tidak berbahaya, secara alami bakteri ini merupakan bakteri penghuni tubuh. tetapi ketika pada situasi tertentu bakteri ini dapat bersifat patogen bila berpindah habitat yang sebelumnya kabagian lain dalam inang (Melliawati, 2009). Kelebihan bakteri *E.*

coli dapat menimbulkan diare, dan ketika bakteri ini menyebar ke sistem/organ tubuh lain, maka dapat mengakibatkan infeksi. Jika *E. coli* berhasil memasuki saluran kemih, maka dapat memicu terjadinya infeksi saluran kemih (ISK). Diare berdarah adalah gejala keracunan makanan serius pada manusia yang disebabkan oleh tipe tertentu, seperti O157:H7 (Sutiknowati, 2016).

6. Aktivitas Antibakteri

Zat yang menghambat terhadap pertumbuhan bakteri disebut dengan antibakteri. Mekanisme kerja antibakteri dapat dibedakan menjadi 2 sifat yaitu bakterisidal dan bakteriostatik. Suatu zat dikatakan bakterisidal didasarkan pada kemampuan untuk membunuh bakteri, sementara bakteriostatik hanya mencegah pertumbuhan bakteri (Ikhsanudin & Ningsih, 2017).

Beberapa jenis agen antimikroba termasuk dalam kategori antibiotik. Meskipun semua antibiotik termasuk agen antimikroba, tetapi tidak seluruh agen antimikroba dapat diklasifikasikan sebagai antibiotik. Antibiotik merupakan metabolit yang diproduksi atau diperoleh oleh berbagai jenis mikroorganisme, yang pada konsentrasi rendah

memiliki kemampuan mencegah pertumbuhan mikroorganisme lain (Febrianasari, 2018).

7. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan melalui beberapa metode dan metode yang terkenal yaitu metode dilusi dan metode difusi. Metode dilusi umumnya diterapkan untuk mengetahui diameter zona hambat minimum atau *Diameter Zone of Inhibition* (DZI). konsentrasi minimal dari agen antimikroba yang diperlukan untuk menghalangi pertumbuhan mikroba. Metode dilusi terdiri dari metode dilusi cair (*Broth dilution method*) dan penipisan lempeng agar (*Agar dilution method*), sedangkan metode difusi terdiri dari beberapa cara yaitu cara Kirby dan Bauer (Kertas cakram/*Agar disk-diffusion method*), cara Parit (*Ditch-plate technique*), cara sumuran (*Hole/Cup-plate technique*), dan cara *E-test* (epsilometer). Prinsip yang mendasari metode difusi adalah senyawa antibakteri didifusikan ke dalam media padat yang didalamnya terdapat bakteri uji yang telah diinokulasikan (Nurhayati et al., 2020).

Metode kertas cakram banyak digunakan dalam pengujian antibakteri karena memiliki banyak kelebihan, diantaranya sederhana, biaya

yang rendah, memiliki kemampuan untuk menguji berbagai jenis mikroorganisme dan antimikroba, serta kemudahan dalam interpretasi hasil uji. Namun, metode ini juga memiliki beberapa kelemahan, seperti tidak mampu memperkirakan konsentrasi hambat minimum (KHM) karena sulit atau bahkan tidak memungkinkan untuk mengukur jumlah agen antimikroba yang tersebar ke dalam media agar. Selain itu metode ini tidak memiliki kemampuan membedakan efek bakteristatik dan bakterisidal (Balouiri et al., 2016).

Metode difusi kertas cakram merupakan suatu metode uji yang memanfaatkan kertas cakram sebagai media penyerap zat anti mikroba. Selanjutnya kertas cakram ditempelkan di atas permukaan media agar yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan kultur mikroba uji, selanjutnya proses inkubasi dilakukan pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Setelah periode inkubasi 18-24 jam, area zona bening diamati dan dihitung diameter zona beningnya. Diameter zona bening kemudian diinterpretasi untuk mengetahui aktivitas zona hambat bakteri (Nurhayati et al., 2020).

B. Kajian Penelitian yang relevan

Pembuatan *eco-enzyme* dari sampah domestik dan bunga frangipani sebagai bahan dasar disinfektan alami dengan penambahan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dapat mempercepat waktu fermentasi yaitu 8 sampai 10 hari. Adapun karakteristik dari produk *eco-enzyme* tersebut menghasilkan kandungan alkohol 60-70% dan pH *eco-enzyme* telah mencapai kurang dari 4,0. Hasil uji antibakteri larutan tersebut mampu mencegah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori penghambatan yang sangat kuat, ditunjukkan dengan zona hambat berkisar antara 31,85-34,41 mm (Rahayu et al., 2021).

Eco-enzyme yang dihasilkan menggunakan limbah buah jeruk, air dan gula merah dengan perbandingan 3:10:1 terbukti mengandung enzim Amilase, protease dan lipase yang ditemukan dalam filtratnya, selain itu juga ditemukan metabolit sekunder, seperti Flavonoid, Alkaloid, Kuinon, Saponin. Hasil Analisis spektrum IR dari *eco-enzyme* juga menunjukkan adanya gugus -OH dan COOH (Vama & Cherekar, 2020).

Eco-enzyme yang diencerkan pada konsentrasi 1:30 hasilnya mampu menekan perkembangan *E. coli*. Selain itu, aplikasi *Eco-enzymes* diencerkan 1:30 mampu mengurangi populasi *E. coli* di lantai kandang babi dan di saluran air. Penelitian ini menunjukkan potensi yang menjanjikan

untuk desinfeksi mikroba untuk mencegah kasus Colibacillosis (Ginting et al., 2021).

Ekstrak kulit nanas yang dimanfaatkan sebagai komponen bahan aktif *hand sanitizer* memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan penelitian Rini et al., (2017) hasil pengujian menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak kulit nanas sebagai salah satu komponen dalam *hand sanitizer* pada konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5% mampu secara efektif menghambat atau membunuh bakteri dengan tingkat keberhasilan yang sangat baik. Meskipun demikian, daya hambat bakteri yang paling optimal terjadi pada konsentrasi ekstrak kulit nanas sebesar 1,5% yang menghasilkan zona hambat dengan diameter 15,5 mm pada *Staphylococcus aureus* dan sebesar 15 mm pada *Escherichia coli*.

Berdasarkan penelitian Rahman et al., (2021) Larutan *garbage enzyme* dari limbah sayuran yang terdiri dari kubis, kentang dan kulit labu kuning dan ampas menunjukkan aktivitas antimikroba dari enzim liofilisasi fraksi FPLC (*Fast protein liquid chromatography*) dengan zona hambat yang signifikan dibandingkan dengan antibiotik terhadap *E. coli* dan *R. leguminosarum* dan zona hambat yang kecil terhadap *S. aureus*. Hasil uji antimikroba menggunakan metode fraksi FPLC menunjukkan zona hambat sebesar 7,5 mm pada *E.*

coli, 5 mm pada *S. aureus* dan 6,5 mm pada *R. leguminosarum*.

C. Hipotesis Penelitian

Penggunaan starter dalam proses fermentasi dapat meningkatkan kecepatan fermentasi serta menghasilkan tingkat aktivitas biologis yang lebih optimal jika dibandingkan dengan fermentasi alami.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo pada tanggal 14 maret 2023 – 15 Juni 2023.

B. Bahan dan Alat

1. Bahan yang digunakan

Limbah kulit nanas, molase, *aquadest*, etanol 70%, Peraeksi Wagner, HCl 1N (Merck), FeCl₃ (Merck), NaOH (Merck), Indikator PP 1% (Phenolphthalein), nutrient agar (NA) (Merck), NaCl (Merck), H₂SO₄ 1%(Merck), BaCl₂ 1% (Merck), ragi roti, ragi tape, dan bakteri *E. coli*.

2. Alat yang digunakan

Gelas ukur, gelas kimia, labu ukur, erlenmeyer, pipet tetes, tabung reaksi, corong pipet media, dan pipet ukur (iwaki), kassa, kapas steril, tissue, kertas pembungkus, jangka sorong, sarung tangan, korek api (Tokai), batang pengaduk, rak tabung reaksi, cawan petri vial, kawat ose, bunsen, spatel logam, mikropipet (Dlab), timbangan analitik (Mettler Toledo), lemari es (Samsung), incubator (Memmert),

autoklaf (Hirayama), LAF (Esco), vortex (Bio-rad), hot plate (OEM), kertas pH universal (DR. Gray), alkohol meter (MC).

C. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan *Eco-enzyme*

Proses pembuatan *eco-enzyme* pertama yaitu dipersiapkan wadah yang bisa tertutup rapat berukuran 1,5 L, selanjutnya dimasukkan limbah kulit nanas madu 90 g, molase 30 g, dan air 300 mL. Selanjutnya larutan ditambahkan ragi sebesar 1% dari kandungan air yaitu 3 g. Adapun formulasi *eco-enzyme* ditunjukkan pada Tabel 3. 1 Setelah seluruh bahan selesai dimasukkan, seluruh campuran diaduk hingga homogen dan kemudian ditutup hingga rapat. Proses fermentasi dilakukan kurang lebih 1 bulan. Selama proses fermentasi sebaiknya dibuka tiap 2 hari untuk membuang gas hasil fermentasi. Selanjutnya produk hasil fermentasi dianalisis dan diuji. Variasi yang digunakan pada percobaan ini yaitu penambahan ragi tape dan ragi roti (M. R. Rahayu et al., 2021).

Tabel 3. 1 Formulasi *eco-enzyme*

Bahan	<i>Eco-enzyme</i> (EE)		
	EE-1 (tanpa ragi)	EE-2 (ragi roti)	EE-3 (ragi tape)
Kulit nanas (g)	90	90	90
Molase (g)	30	30	30
Air (mL)	300	300	300
Ragi Roti (g)	-	3	-
Ragi Tape (g)	-	-	3

2. Karakterisasi *eco-enzyme*

a. Uji Fitokimia

1. Alkaloid (Saxena & Kumar, 2020)

Sebanyak 1 mL sampel *eco-enzyme* diambil dan ditambahkan 3 tetes pereaksi wagner. terbentuknya endapan berwarna coklat mengindikasikan hasil positif kandungan alkaloid.

2. Tanin (Nelce Mailoa et al., 2014)

Sebanyak 1 mL sampel *eco-enzyme* ditambahkan dengan beberapa tetes FeCl_3 1%. Hasil positif diindikasikan dengan perubahan warna larutan menjadi coklat kehijauan atau biru kehitaman.

3. Saponin (María et al., 2018)

Sebanyak 1 mL sampel *eco-enzyme* ditambah 2 tetes HCl 1N, lalu dikocok kuat-kuat hingga berbusa, kemudian didiamkan selama 10 menit. Kandungan saponin diukur sebagai berikut: tidak ada buih (tidak ada); tinggi buih kurang dari 3 mm (buruk); buih dengan tinggi 6 mm (sedang) dan buih dengan tinggi lebih dari 8 mm (berlimpah).

4. Flavonoid (María et al., 2018)

Sebanyak 1 mL sampel ditambah NaOH 10% beberapa tetes. Terbentuknya warna kuning-merah, kopi-oranye, ungu-merah atau biru mengindikasikan adanya xanthone dan/atau flavon, flavonol, chalcones dan anthocyanin.

5. Fenolik (Syaron Manongko et al., 2020)

Sebanyak 1 mL sampel *eco-enzyme* ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl_3 5%. Hasil positif ditunjukkan dengan endapan berwarna coklat kehijauan.

b. Analisis kandungan alkohol (Rahayu et al., 2021)

Analisis kandungan alkohol dilakukan menggunakan alkohol meter, cairan EE-1, EE-2, dan EE-3 dimasukkan ke dalam gelas ukur

sebanyak 100 mL, kemudian dimasukkan alkohol meter, dan dicatat hasil pengukuran. analisis dilakukan dihari ke-14.

c. Analisis pH (Rahayu et al., 2021)

Pengujian nilai pH dilakukan dengan memasukkan sampel cairan EE-1, EE-2, dan EE-3 ke dalam gelas kimia 20 mL, selanjutnya dilakukan uji pH menggunakan pH universal. pH *eco-enzyme* yang baik dibawah 4.

d. Analisis kadar asam asetat (A. Islami, 2022)

Sebanyak 2 mL larutan EE-1, EE-2, dan EE-3 masing-masing diencerkan dengan 8 mL akuades. kemudian, ditambahkan 2 tetes indikator PP 1%. Selanjutnya, larutan EE-1, EE-2, dan EE-3 dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna pada titik akhir ekuivalen pada rentang pH 8-9,6. Adapun kadar asam asetat dapat dihitung dengan persamaan 3.1 (A. Islami, 2022)

kadar asam asetat =

$$\frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BE \text{ Asam Asetat} \times \text{Pengenceran}}{(M \text{ Sampel} \times 1000)}$$

(3.1)

3. Uji aktivitas antibakteri

a. Pembuatan media NA (Susanti, 2021)

Bubuk NA sebanyak 20 g dilarutkan dalam 1 liter aquades, Larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* sekaligus dipanaskan menggunakan Hot Plate. Larutan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit sehingga didapat Media NA Steril.

b. Peremajaan bakteri (Susanti, 2021)

Biakan bakteri murni diambil Sebanyak 1 ose, kemudian digoreskan secara zigzag ke dalam tabung yang telah berisi media agar dengan posisi miring, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. (Susanti, 2021).

c. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5 (Aviany & Pujiyanto, 2020)

Larutan asam sulfat 1% sebanyak 9,5 mL dicampur dengan 0,05 mL larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1% dalam labu Erlenmeyer, kemudian larutan dikocok agar homogen hingga terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Sebagai pembanding, Kekeruhan larutan Mc Farland 0,5 dijadikan sebagai acuan

untuk mengukur kekeruhan kultur bakteri dalam medium cair dengan kepadatan antara 1×10^7 sel/mL - 1×10^8 sel/mL.

d. Pembuatan Suspensi Bakteri (Susanti, 2021)

Satu mata ose bakteri diambil dari kultur bakteri, lalu dimasukkan dalam larutan NaCl 0,9% dalam tabung reaksi. Kekeruhan suspensi disamakan dengan kekeruhan larutan standar Mc Farland 0,5 untuk mengetahui kadar bakteri.

e. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kertas Cakram (Susanti, 2021)

Media NA dimasukkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat, setelah itu suspensi bakteri dioleskan pada media NA yang telah memadat secara zig-zag hingga merata. Kemudian kertas cakram diambil dan masing-masing dimasukkan ke dalam larutan *eco-enzyme* EE-1, EE-2, dan EE-3. Selanjutnya kertas cakram ditempelkan ke dalam cawan petri yang telah diberi keterangan/label dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasil zona hambat bakteri diamati, kemudian diukur menggunakan jangka sorong dan dicatat hasil pengukuran.

BAB IV

ANALISIS DATA DAN PEMBAHASAN

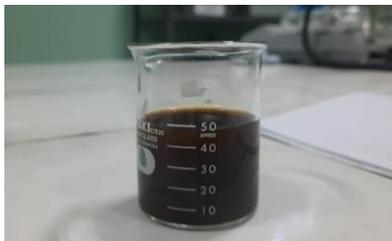
A. Pembuatan *Eco-enzyme*

Kulit buah piasah yang digunakan diperoleh dari penjual nanas di daerah Ngaliyan, Kota Semarang pada bulan Maret 2023. Kulit yang diambil dipisahkan dari daunnya dan telah berupa potongan-potongan kecil. Selanjutnya dibuat larutan *eco-enzyme* dengan Formulasi sesuai pada Tabel 3. 1. Proses pembuatan *eco-enzyme* EE-1 yaitu dipersiapkan wadah yang bisa tertutup rapat berukuran 1,5 L, limbah buah 90 g, molase 30 g, dan aquades 300 mL. Limbah buah 90 g dimasukkan ke dalam wadah yang telah disiapkan. Selanjutnya molase ditimbang sebanyak 30 g menggunakan gelas beaker, molase yang sifatnya sangat kental diencerkan menggunakan aquades 50 mL secara bertahap dan dituang ke dalam wadah yang telah berisi kulit nanas hingga molase dalam gelas beaker benar-benar bersih \pm 4 kali. Selanjutnya sisa aquades sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam wadah. Setelah seluruh bahan selesai dimasukkan, seluruh campuran diaduk hingga homogen dan kemudian ditutup hingga benar-benar rapat.

Proses pembuatan *eco-enzyme* EE-2 yaitu dipersiapkan dipersiapkan limbah buah 90 g, molase 30 g, aquades 300 mL, Ragi roti 3 g, dan wadah yang bisa tertutup rapat berukuran 1,5 L. Limbah buah 90 g dimasukkan ke dalam wadah yang telah disiapkan. Selanjutnya molase ditimbang sebanyak 30 g menggunakan gelas beaker, molase yang sifatnya sangat kental diencerkan menggunakan aquades 50 mL secara bertahap dan dituang ke dalam wadah yang telah berisi kulit nanas hingga molase dalam gelas beaker benar-benar bersih \pm 4 kali. larutan ragi dibuat dengan cara ragi roti sebanyak 3 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas Beaker, selanjutnya ragi ditambahkan dengan aquades yang telah dihangatkan pada suhu \pm 60°C. larutan ragi diaduk dan didiamkan hingga membentuk buih. larutan ragi yang telah membentuk buih dimasukkan ke dalam wadah yang telah berisi molase dan kulit nanas. Setelah seluruh bahan selesai dimasukkan, seluruh campuran diaduk hingga homogen dan kemudian ditutup hingga benar-benar rapat.

Proses pembuatan *eco-enzyme* EE-3 yaitu dipersiapkan limbah buah 90 g, molase 30 g, aquades 300 mL, Ragi 3 g, dan wadah yang bisa tertutup rapat berukuran 1,5 L. Limbah buah 90 g dimasukkan ke dalam wadah yang telah disiapkan. Selanjutnya molase

ditimbang sebanyak 30 g menggunakan gelas beaker, molase yang sifatnya sangat kental diencerkan menggunakan aquades 50 mL secara bertahap dan dituang ke dalam wadah yang telah berisi kulit nanas hingga molase dalam gelas beaker benar-benar bersih, ± 4 kali. larutan ragi dibuat dengan cara ragi tape ditimbang sebanyak 3 gram, kemudian digerus terlebih dahulu menggunakan mortar dan alu, lalu ragi tape dimasukkan ke dalam gelas Beaker, selanjutnya ragi ditambahkan dengan aquades yang telah dihangatkan pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$. larutan ragi diaduk dan didiamkan hingga membentuk buih. larutan ragi yang telah membentuk buih dimasukkan ke dalam wadah yang telah berisi molase dan kulit nanas. Setelah seluruh bahan selesai dimasukkan, seluruh campuran diaduk hingga homogen dan kemudian ditutup hingga benar-benar rapat. Proses fermentasi dilakukan selama 1 bulan. Selama proses fermentasi sebaiknya dibuka tiap 2 hari sekali pada 10 hari pertama untuk membuang gas hasil fermentasi. Hasil ketiga larutan *eco-enzyme* berbau asam manis khas fermentasi nanas dan berwarna coklat seperti pada Gambar 4. 1. Hasil ini sesuai dengan hasil uji organoleptic larutan *eco-enzyme* oleh Rohmah et al., (2020) yaitu larutan *eco-enzyme* dari nanas madu yang divariasikan kadar airnya memiliki warna coklat gelap, warna coklat, dan dan warna coklat muda.



Gambar 4. 1 Larutan *eco-enzyme* EE-1

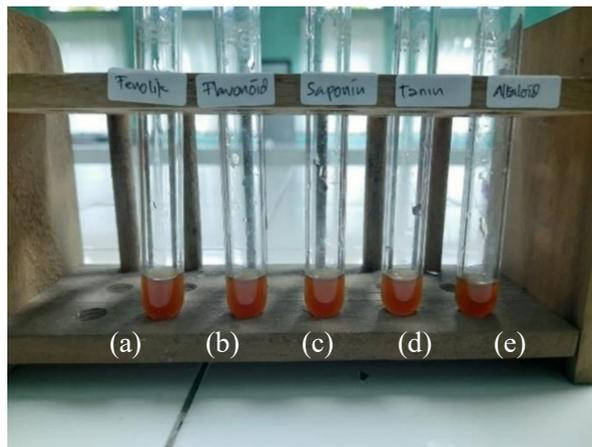
B. Karakteristik *Eco-enzyme*

1. Uji Fitokimia

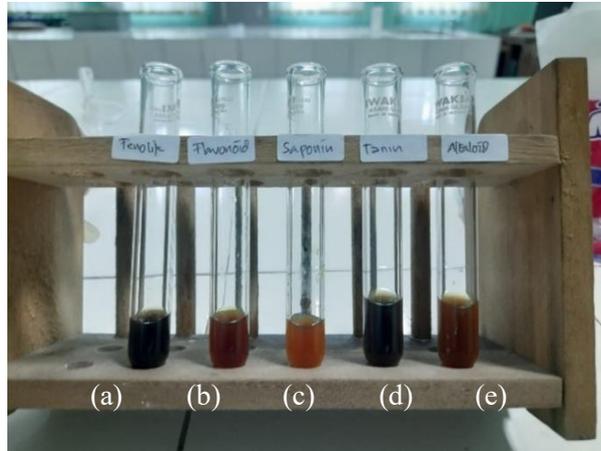
Tabel 4. 1 Hasil uji fitokimia

No.	Senyawa	EE-1	EE-2	EE-3	keterangan
1	Saponin	(-)	(-)	(-)	Busa yang terbentuk kurang stabil tidak bertahan selama lebih dari 30 detik.
2	Alkaloid	(+)	(+)	(+)	Larutan berubah berwarna coklat dan terbentuk endapan berwarna coklat.
3	Flavonoid	(+)	(+)	(+)	Larutan berwarna

No.	Senyawa	EE-1	EE-2	EE-3	keterangan
					jingga-coklat
4	Tanin	(+)	(+)	(+)	Larutan berwarna coklat keruh kehijauan
5	Fenolik	(+)	(+)	(+)	Larutan berwarna coklat kehijauan

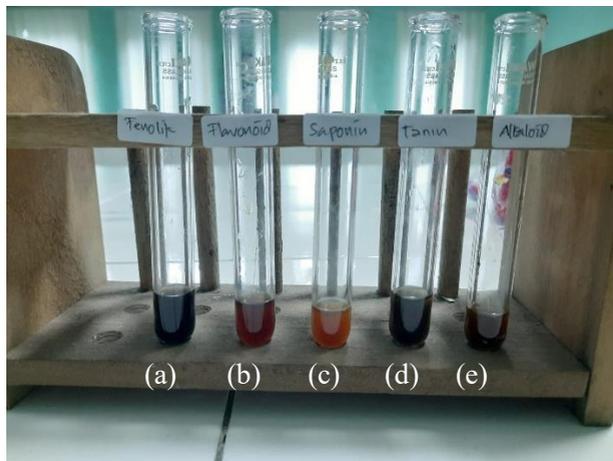


Gambar 4. 2 Larutan *Eco-enzyme* sebelum uji fitokimia (a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid

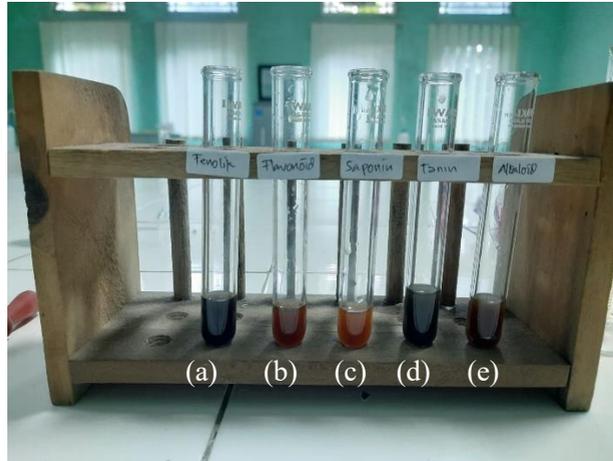


Gambar 4. 3 Hasil uji fitokimia EE-1

(a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e)
Alkaloid



Gambar 4. 4 Hasil uji fitokimia EE-2 (a) fenolik (b)
Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid

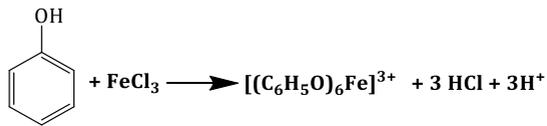


Gambar 4. 5 Hasil uji fitokimia EE-3 (a) fenolik (b) Flavonoid (c) Saponin (d) Tanin (e) Alkaloid

a. Uji Fenolik

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 5% dan dihomogenkan. Hasil yang didapat ketiga larutan sampel ketika ditetaskan dengan FeCl_3 5% larutan berubah warna menjadi berwarna hijau kehitaman seperti pada Gambar 4. 3 (a), Gambar 4. 4 (a), dan Gambar 4. 5 (a). Uji fitokimia menggunakan FeCl_3 dapat mengidentifikasi keberadaan gugus fenol, keberadaan senyawa fenol mengindikasikan kemungkinan keberadaan senyawa tanin, karena tanin termasuk senyawa

polifenol (Ikalinus et al., 2015). Perubahan warna yang terjadi ketika uji fenolik disebabkan karena adanya reaksi antara ion Fe^{3+} dengan gugus keto pada senyawa fenolik yang bersifat sebagai logam pengkelat (Mailuhu et al., 2017). Reaksi yang terjadi seperti pada Gambar 4. 6.

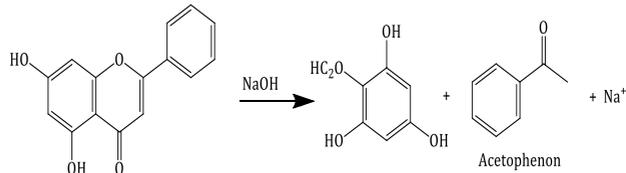


Gambar 4. 6 Reaksi uji fenolik (Sugiarna et al., 2019)

b. Uji Flavonoid

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes NaOH 10% dan dihomogenkan. Hasil yang didapat ketiga larutan sampel ketika ditetaskan dengan NaOH 10% larutan berubah warna menjadi jingga-kecoklatan seperti pada Gambar 4. 3 (b), Gambar 4. 4 (b), dan Gambar 4. 5 (b). Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi berwarna jingga-kuning. Ketika larutan sampel direaksikan dengan basa kuat seperti NaOH maka akan terjadi penguraian oleh basa menjadi acetophenon yang mengakibatkan perubahan warna menjadi kuning

(Kusnadi & Triana Devi, 2017). Perkiraan reaksi yang terjadi seperti Gambar 4. 7.



Gambar 4. 7 Reaksi uji flavonoid (Fransina et al., 2019)

Kandungan flavonoid juga memiliki mekanisme antibakteri. Gugus hidroksil yang terkandung dalam struktur flavonoid menimbulkan terjadinya perubahan komponen organik dan transpor nutrisi, yang selanjutnya menyebabkan efek toksik pada bakteri. Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh flavonoid total yang terkandung di dalamnya, semakin tinggi kandungan flavonoid total maka aktivitas antibakterinya semakin tinggi (Manik et al., 2014).

c. Uji saponin

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 1 mL ditambahkan dengan larutan HCl 1N sebanyak 2 tetes kemudian dikocok beberapa saat. Hasil yang didapat ketiga larutan sampel menghasilkan buih, akan tetapi buih yang ditimbulkan tidak bertahan

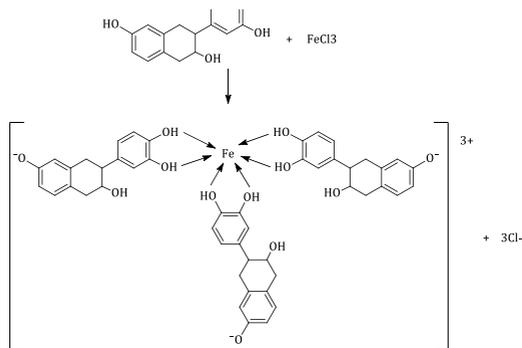
lama dan kurang stabil seperti yang terlihat pada Gambar 4. 3 (c), Gambar 4. 4 (c), dan Gambar 4. 5 (c).

Penambahan HCl pada uji saponin bertujuan untuk meningkatkan kepolaran pada senyawa saponin yang menyebabkan perubahan letak gugus penyusunnya. Pada kondisi tersebut gugus yang memiliki sifat polar (hidrofilik) akan mengarah ke luar dan gugus non-polar (hidrofobik) mengarah ke dalam dan membentuk struktur yang dikenal sebagai struktur misel (Parbuntari et al., 2018).

d. Uji Tanin

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1% dan dihomogenkan. Hasil yang didapat ketiga larutan sampel ketika ditetaskan dengan FeCl_3 1% terjadi perubahan warna pada larutan menjadi berwarna hijau kehitaman seperti pada Gambar 4. 3 (d). Gambar 4. 4 (d). Gambar 4. 5 (d). Perubahan warna ini mengindikasikan adanya kandungan tanin dalam sampel, ditandai dengan warna hijau kehitaman dan terbentuknya endapan. Perubahan warna terjadi akibat adanya reaksi antara larutan sampel dengan FeCl_3 1% dan membentuk senyawa

kompleks (Putri & Lubis, 2020). Reaksi yang terjadi seperti pada Gambar 4. 8.

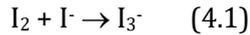


Gambar 4. 8 Reaksi uji tanin (Oktavia & Sutoyo, 2021)

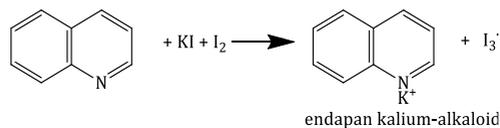
e. Uji Alkaloid

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 1 mL ditambahkan dengan beberapa tetes larutan pereaksi wagner dan dihomogenkan. Hasil yang didapat ketika larutan sampel ketika direaksikan dengan pereaksi wagner larutan sampel larutan berubah warna dan terbentuk endapan berwarna kecoklatan seperti pada Gambar 4. 3 (e), Gambar 4. 4 (e), dan Gambar 4. 5 (e). Endapan yang muncul tersebut merupakan kalium-alkaloid. Pada pembuatan reagen Wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- yang berasal dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- (larutan berwarna

kecoklatan) seperti pada reaksi 4.1 (Parbuntari et al., 2018).



Hasil uji wagner menunjukkan bahwa ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid dan menghasilkan endapan kompleks kalium-alkaloid seperti reaksi pada Gambar 4. 9. (Parbuntari et al., 2018).



Gambar 4. 9 Reaksi uji alkaloid (Parbuntari et al., 2018)

Mekanisme senyawa alkaloid sebagai Antibakteri ditunjukkan dengan merusak pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri. Hal ini mengakibatkan lapisan dinding sel bakteri tidak dapat terbentuk dengan sempurna, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri (Rachmawaty et al., 2009).

2. Uji pH

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 10 mL dituangkan ke dalam gelas ukur lalu diuji menggunakan kertas pH universal untuk mengetahui pH larutan *eco-enzyme*. Hasil pH larutan tertera pada Tabel 4. 2. Nilai pH larutan memiliki hubungan dengan adanya kandungan asam-asam organik pada larutan *eco-enzyme*. Semakin tinggi pH maka semakin sedikit kadar asam asetat. Sesuai dengan hasil penelitian A. Islami, (2022) yang menyatakan *eco-enzyme* yang telah difermentasi memiliki hubungan antara nilai pH dengan kadar asam asetat, semakin tinggi kadar asam asetat, maka semakin rendah nilai pH *eco-enzyme*. Menurut Win, (2011) *eco-enzyme* yang telah terfermentasi dengan baik memiliki kandungan pH di bawah 4 dan biasanya perubahan terjadi setelah tiga bulan proses fermentasi (Suprayogi et al., 2022).

Tabel 4. 2 Hasil uji pH

	EE-1	EE-2	EE-3
pH	3	4	3



Gambar 4. 10 Uji pH EE-2

3. Uji Kadar Alkohol

Larutan *eco-enzyme* sebanyak 40 mL dituangkan ke dalam gelas ukur 50 mL. larutan sampel diuji menggunakan alkohol meter. Larutan yang diuji merupakan larutan *eco-enzyme* yang telah difermentasi selama 2 minggu. Alkohol tidak terdeteksi pada pengujian menggunakan alkohol meter seperti yang terlihat pada Tabel 4. 3 dan Gambar 4. 11. Alkohol yang tidak terdeteksi kemungkinan telah memasuki fase pembentukan asam asetat hal tersebut diperkuat dengan pH yang telah berubah menjadi pH asam (Suprayogi et al., 2022). Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Suprayogi et al., (2022) *eco-enzyme* yang telah difermentasi selama selama 30 hari, 60 hari, dan 90 hari tidak terdeteksi adanya alkohol.



Gambar 4. 11 Uji kadar alkohol menggunakan alkoholmeter EE-1

Tabel 4. 3 Hasil uji Alkohol

	EE-1	EE-2	EE-3
Kadar Alkohol	0%	0%	0%

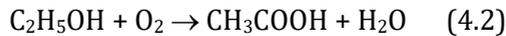
4. Uji Kadar Asam Asetat

Pengujian kadar asam asetat menggunakan metode titrasi. Larutan *eco-enzyme* sebanyak 2 mL diencerkan menggunakan aquades 8 mL dan ditambahkan beberapa tetes indikator PP. Fungsi indikator PP digunakan untuk mengetahui titik akhir titrasi saat terjadinya perubahan warna. Selanjutnya larutan sampel dihomogenkan dan dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N. Proses titrasi dihentikan saat terjadi perubahan warna menjadi coklat tua dan pH nya mencapai titik akhir ekuivalen yaitu pada pH 8-9,6. Hasil volume titrasi dicatat dan kemudian dihitung

untuk mengetahui kadar asam asetat. Hasil pengukuran dan perhitungan dapat dilihat pada Tabel 4.4 didapatkan kadar asam asetat tertinggi terdapat pada *eco-enzyme* tanpa ragi (EE-1) sebanyak 3,55%, kemudian *eco-enzyme* dengan ragi tape (EE-3) 3,29%, dan kandungan paling sedikit yaitu *eco-enzyme* dengan ragi roti 2,5%. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian A. Islami, (2022) kadar asam asetat pada *eco-enzyme* dari berbagai kulit jeruk yang divariasikan berkisar antara 3,32% hingga 5,53%. Hasil perbedaan kadar asam asetat tidak jauh berbeda dengan penelitian Maryana et al., (2020) perbedaan kadar asam asetat pada sampel dengan penambahan ragi roti 0,6% mengandung asam asetat 19 ppm sedangkan sampel dengan penambahan ragi tape 0,8% mengandung asam asetat sebanyak 39 ppm. Persamaan dengan penelitian ini yaitu kadar asam asetat pada sampel dengan penambahan ragi tape lebih besar dibandingkan sampel dengan penambahan ragi roti.

Asam asetat merupakan senyawa yang terdapat secara alami sebagai metabolit pada tumbuhan dan hewan. Asam asetat dapat diproduksi melalui penguraian limbah biologis padat dan mudah dimetabolisme oleh organisme hidup. Menggunakan

bakteri (spesies *Acetobacter*), sejumlah besar cuka diproduksi dengan memfermentasi alkohol sesuai dengan reaksi 4.2 (Pravasi, 2014).



Tabel 4. 4 Hasil uji kadar asam asetat

	EE-1	EE-2	EE-3
Kadar Asam Asetat	3,55%	2,5%	3,29%

C. Uji Antibakteri

1. Pembuatan Media NA

Pembuatan media NA dibuat dengan melarutkan 2,8 g media NA padat ke dalam 100 mL aquades steril pada erlenmeyer. Selanjutnya larutan dihomogenkan. Setelah larutan homogen larutan media NA kemudian di sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu dan tekanan yang tinggi (121°C, 15 lbs) selama ± 15 menit. Fungsi sterilisasi media NA agar media steril dan tidak terkontaminasi oleh jamur maupun mikroorganisme lain. Selanjutnya media yang telah disterilisasi dapat digunakan.

2. Peremajaan Bakteri

Media NA yang telah steril diambil sebanyak 5 mL menggunakan pipet volume dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah di sterilisasi. Selanjutnya tabung reaksi yang telah berisi media NA

dimiringkan $\pm 20^\circ$ dan ditunggu hingga media memadat. Setelah media agar dengan posisi miring memadat diambil 1 ose biakan bakteri murni kemudian digoreskan secara zig zag ke dalam tabung yang telah berisi media, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . hasil peremajaan bakteri seperti yang terlihat Gambar 4. 12.



Gambar 4. 12 Peremajaan bakteri *E. coli*

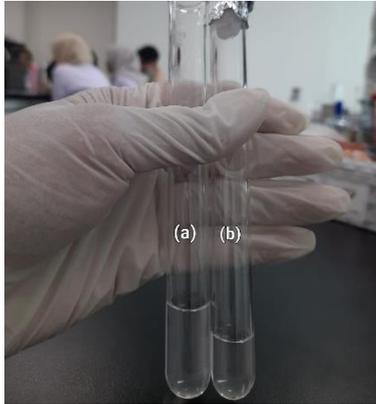
3. Pembuatan Larutan Mc Farland 0,5

Larutan Mc Farland 0,5 biasa digunakan sebagai standar untuk mengukur tingkat kekeruhan dalam kultur bakteri dalam medium cair. Tingkat kekeruhan larutan Mc Farland 0,5 setara dengan $\pm 1 \times 10^7$ sel/mL - 1×10^8 sel/mL (Aviany & Pujiyanto, 2020). Pembuatan larutan Mc Farland dilakukan dengan mencampurkan asam sulfat dengan BaCl_2 .

Larutan barium clorida (BaCl_2) 1% dalam akuades sebanyak 0,05 mL dicampurkan dengan 9,95 mL asam sulfat (H_2SO_4) 1% ke dalam Erlenmeyer, selanjutnya larutan dikocok hingga terbentuk larutan yang keruh. Selanjutnya larutan disimpan dan dihindarkan dari paparan sinar matahari langsung.

4. Pembuatan suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil satu ose biakan bakteri kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah diisi larutan NaCl fisiologis 0,9%. setelah itu, suspensi bakteri dihomogenkan menggunakan alat vortex. Setelah homogen, kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dengan larutan Mc Farland 0,5. Apabila larutan suspensi Ketika dibandingkan dengan larutan Mc Farland 0,5 lebih keruh maka ditambahkan lagi dengan larutan NaCl fisiologis hingga mencapai tingkat kekeruhan sama seperti yang terlihat pada Gambar 4. 13.



Gambar 4. 13 (a) Mc Farland 0,5 (b) Suspensi Bakteri
Suspensi bakteri kemudian diuji menggunakan spektrofotometer *UV-Vis*. Larutan suspensi bakteri kemudian dibandingkan adsorbansinya dengan larutan Mc Farland. Hasil dari uji *UV-Vis* didapatkan nilai adsorbansi larutan Mc Farland 0,169 dan nilai adsorbansi suspensi bakteri 0,170 pada panjang gelombang 284 nm.

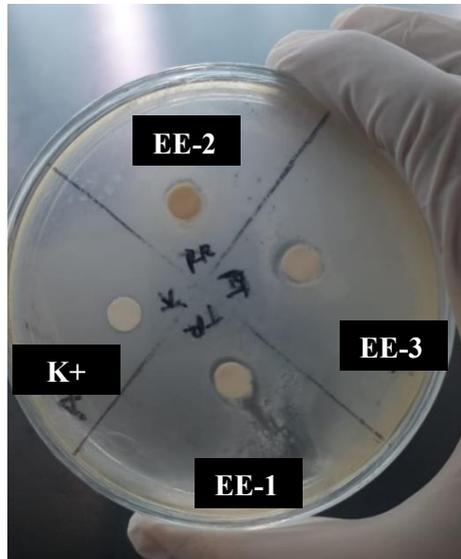
5. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kertas Cakram

Uji antibakteri pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode difusi dengan jenis *disc diffusion* atau kertas cakram. Uji ini memiliki beberapa kelebihan, diantaranya biaya yang lebih rendah, dan lebih sederhana, Metode difusi kertas cakram merupakan metode uji yang dilakukan

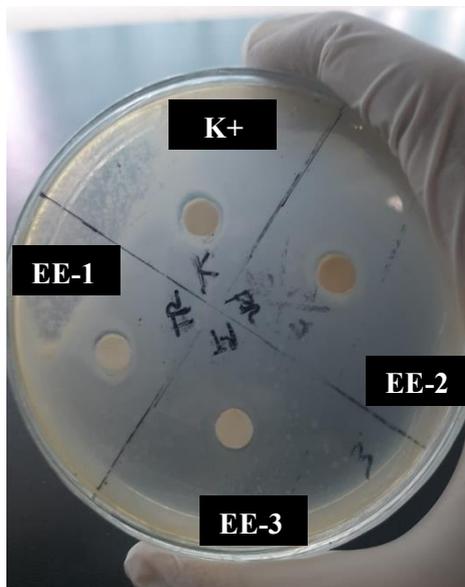
dengan menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan anti mikroba.

Sebelum pengujian seluruh alat disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf. Proses pengujian dilakukan di dalam LAF (Laminar Air Flow). Petri yang telah disterilisasi diberi garis 4 bagian dan keterangan menggunakan spidol, selanjutnya media NA dipanaskan pada suhu 250°C hingga media mencair. Media yang telah mencair kemudian dimasukkan ke dalam petri dan didiamkan hingga memadat. Setelah petri memadat suspensi bakteri dituang ke dalam petri menggunakan mikro pipet yang telah diatur sebanyak 250 μL dan diratakan menggunakan *glass drill* hingga merata merata ke seluruh petri. Petri yang telah dibagi menjadi 4 bagian diberikan kertas cakram yang telah ditetesi larutan sampel yang berbeda yaitu EE-1, EE-2, EE-3, dan kontrol positif alkohol 70%. Selanjutnya media diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah 18-24 jam area zona bening diamati dan dihitung zona beningnya dan diinterpretasikan untuk mengetahui klasifikasi zona hambat bakteri termasuk dalam kategori hambat yang lemah, sedang, kuat, maupun sangat kuat. Uji antibakteri dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Hasil pengujian terdapat

pada Gambar 4. 14, Gambar 4. 15, dan Tabel 4. 5. Alkohol 70% sebagai kontrol positif menunjukkan zona hambat sebesar 1,54 mm dan termasuk pada kategori penghambatan yang lemah. EE-1 menunjukkan zona hambat dengan rata-rata total 2,26 mm dan termasuk pada kategori penghambatan yang lemah. EE-2 memiliki zona hambat dengan rata-rata total 1,013 mm dan termasuk pada kategori penghambatan yang lemah. EE-3 memiliki zona hambat dengan rata-rata total 1,19 mm dan termasuk pada kategori penghambatan yang lemah. Hasil penelitian ini belum sesuai dengan hasil penelitian Rahmi et al., (2020) yang menyatakan Penggunaan starter pada fermentasi menghasilkan tingkat aktivitas biologis yang lebih unggul dibandingkan dengan fermentasi alami. Kulit Nanas memiliki aktivitas antibakteri karena mengandung enzim bromelain dan beberapa senyawa metabolit sekunder yang secara mekanisme menunjukkan aktivitas antibakteri.



Gambar 4. 14 Uji Antibakteri replikasi 1



Gambar 4. 15 Uji Antibakteri replikasi 2

Tabel 4. 5 Uji antibakteri

Sampel	Kontrol positif	Tanpa ragi (EE-1)	Ragi roti (EE-2)	Ragi tape (EE-3)
Replikasi 1 (mm)	0	2,225	2,025	2,375
Replikasi 2 (mm)	3,075	2,3	0	0
diameter Zona hambat (mm)	1,538 ± 2,174	2,263 ± 0,053	1,013 ± 1,432	1,188 ± 1,679

BAB V

Penutup

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disimpulkan bahwa :

1. Karakteristik dari *eco-enzyme* dengan tambahan ragi maupun tanpa ragi mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, fenolik, dan tannin. Ketiga sampel berada di $\text{pH} \leq 4$, EE-1 pH 3, EE-2 pH 4, dan EE-3 pH 3. Kadar asam asetat (EE-1) 3,55%, (EE-2) 2,5% , dan (EE-3) 3,29.
2. Hasil uji antibakteri didapat hasil diameter zona hambat pada larutan *eco-enzyme* tanpa ragi (EE-1) 2,263 mm, pada larutan *eco-enzyme* ragi roti (EE-2) 1,013 mm, dan pada larutan *eco-enzyme* ragi tape (EE-3) 1,188 mm. Ketiga larutan sampel masuk dalam kategori daya hambat lemah.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode uji antibakteri yang berbeda.
2. Perlu dilakukan uji kadar asam asetat dan pH dengan rentang waktu yang berbeda.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan bakteri yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahamed, A. A., Priya, V. V., R, G., & Geetha, R. V. (2016). Evaluation of Anti Microbial Activity of Pineapple Extract Against Selected Microbes. *Nternational Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 39(1), 277–278. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2010.08.012>
- Aji, D. U. (2023, February 11). *Sensasi Petik Langsung di Kebun Nanas Kudus, Cocok Isi Liburan Akhir Pekan*. Detik Jateng. <https://www.detik.com/jateng/wisata/d-6563728/sensasi-petik-langsung-di-kebun-nanas-kudus-cocok-isi-liburan-akhir-pekan>
- Arun, C., & Sivashanmugam, P. (2015). Investigation of biocatalytic potential of garbage enzyme and its influence on stabilization of industrial waste activated sludge. *Process Safety and Environmental Protection*, 94(C), 471–478. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.10.008>
- Aviary, H. B., & Pujiyanto, D. S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. In *Berkala Bioteknologi* (Vol. 3, Issue 2).
- Bahari, M. H. N., & Wikaningrum, T. (2022). The Characterization of Guava Eco Enzyme and Its Correlations to NH₃ , PO₄ , And pH Reduction In Water Samples. *Journal of Environmental, Engineering, and Waste Management*, 07(01), 20–33. <https://doi.org/10.33021/jenv.v7i1.1520>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. In *Journal of Pharmaceutical Analysis* (Vol. 6, Issue 2, pp. 71–79). Xi'an Jiaotong University. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Champoux, J. J., Drew, W. L., Neidhardt, F. C., & Plorde, J. J. (2004). *Sherris Medical Microbiology* (K. J. Ryan & C. G.

- Ray, Eds.; 4th ed.). The McGraw-Hill Companies, Inc.
<https://doi.org/10.1036/0838585299>
- Departemen Agama RI. (2010). *Al-Qur'an dan tafsirnya* (Vol. 7). Kementerian Agama Republik Indonesia.
- Ervinta, Hasnudi, Mirwandhono, E., Ginting, N., & Simanullang, B. (2020). Fermentation by Eco Enzyme on Nutritional Content of Rice Straw, Corn Straw, and Oil Palm Fronds. In *Jurnal Peternakan Integratif* (Vol. 8, Issue 3).
- Fatmawati, L. R. (2019). *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas (Ananas comosus[l.]merr.) dan Kulit Pisang (Musa paradisiacal.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. UIN Sunan Ampel.
- Febrianasari, F. (2018). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyu (Chromolaena odorata) Terhadap Staphylococcus aureus*. Universitas Sanata Dharma.
- Fransina, E. G., Tanasale, M. F. J. D. P., Latupeirissa, J., Malle, D., & Tahapary, R. (2019). Phytochemical screening of water extract of gayam (*Inocarpus edulis*) Bark and its amylase inhibitor activity assay. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509(1).
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/509/1/012074>
- Ginting, N., Hasnudi, H., & Yunilas, Y. (2021). Eco-enzyme Disinfection in Pig Housing as an Effort to Suppress *Escherichia coli* Population. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 16(3), 283–287.
<https://doi.org/10.31186/jspi.id.16.3.283-287>
- Gunwantrao, B. B., Bhausahab, S. K., Ramrao, B. S., & Subhash, K. S. (2016). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of orange (*Citrus aurantium* L.) and pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) peel extract. *Annals of Phytomedicine: An International Journal*, 5(2), 156–160.
<https://doi.org/10.21276/ap.2016.5.2.22>

- Hammadi, A. A., & Almousawi, M. R. R. (2021). Cloning of DNA: A Review. *Scientific Journal of Medical Research*, 5(20), 130–134. <https://doi.org/10.37623/sjomr.v05i20.7>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Ikhsanudin, A., & Ningsih, L. (2017). Formulasi Krim Ekstrak Tomat (*Solanumlycopersicum*) Dan Uji Aktivitas Antibakterinya Terhadap *Staphylococcus aureus* atcc 25923 Formulation Cream Of Extract Tomato Fruit (*Solanumlycopersicum*) And Antibacterial Activity Test For *Staphylococcus aureus* atcc 25923. *Borneo Journal of Pharmascientech*, Vol 01(No. 02).
- Islami, A. (2022). *Identifikasi Kadar Asam Asetat Pada Ecoenzyme dari Bahan Organik Kulit Jeruk dengan Metode Titrasi Asam Basa* [Skripsi]. Universitas Negeri Padang.
- Islami, R. (2018). Pembuatan Ragi Tape dan Tape. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Agrokompleks*, 1(2), 56–63.
- Jančić, U., & Gorgieva, S. (2022). Bromelain and Nisin: The Natural Antimicrobials with High Potential in Biomedicine. In *Pharmaceutics* (Vol. 14, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14010076>
- Jayanti, R. T. (2011). *Pengaruh pH, Suhu Hidrolisis Enzim α -Amilase dan konsentrasi Ragi Roti untuk Produksi Etanol Menggunakan Pati Bekatul* [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret.
- Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan. (2021). *Data Pengelolaan sampah dan RTH*. <https://sipsn.Menlhk.Go.Id/>. <https://sipsn.menlhk.go.id/sipsn/public/data/sumber>
- Kusnadi, & Triana Devi, E. (2017). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium*

- graveolens L.) dengan Metode Refluks. *Pancasakti Science Education Journal*, 2(1), 56–67. <http://e-journal.ups.ac.id/index.php/psej>
- Larasati, D., Puji Astuti, A., & Triwahyuni Maharani, E. (2020). Uji Organoleptik Produk Eco-Enzyme Dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus di Kota Semarang). *Seminar Nasional Edusainstek FMIPA UNIMUS 2020*, 278–283.
- Mailuhu, M., Runtuwene, M. R. J., & Koleangan, H. S. J. (2017). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Batang Soyogik(*Saurauia bracteosa* DC). *Chem. Prog*, 10(1). <https://doi.org/10.35799/cp.10.1.2017.27737>
- María, R., Shirley, M., Xavier, C., Jaime, S., David, V., Rosa, S., & Jodie, D. (2018). Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *Journal of King Saud University - Science*, 30(4), 500–505. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.03.009>
- Maryana, T., Silsia, D., & Budiyanto. (2020). Pengaruh Konsentrasi dan Jenis Ragi Pada Produksi Bioetanol dari Ampas Tebu. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 47–56. <https://doi.org/10.31186/j.agroind.10.1.47-56>
- Mavani, H. A. K., Tew, I. M., Wong, L., Yew, H. Z., Mahyuddin, A., Ghazali, R. A., & Pow, E. H. N. (2020). Antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(14), 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph17145107>
- Melliawati, R. (2009). *Eschrichia coli* dalam kehidupan manusia. *BioTrends*, 4(1), 10–14.
- Nazim, F., & V., M. (2017). Organized by Comparison of Treatment of Greywater Using Garbage and Citrus Enzymes. *International Journal of Innovative Research in Science*,

Engineering and Technology An ISO, 3297, 17–18.
www.ijirset.com

- Nelce Mailoa, M., Mahendradatta, M., Laga, A., & Djide, N. (2014). Antimicrobial Activities Of Tannins Extract From Guava Leaves (*Psidium Guajava* L) On Pathogens Microbial. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENTIFIC & TECHNOLOGY RESEARCH*, 3(1). www.ijstr.org
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurnaningsih, H., & Laela, D. S. (2022). Efektivitas berbagai konsentrasi enzim bromelain dari ekstrak buah nanas (*Ananas Comosus* (L.) Merr) terhadap daya antibakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 6(1), 74. <https://doi.org/10.24198/pjdrs.v6i1.38211>
- Oktavia, D. F., & Sutoyo, S. (2021). Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *Jurnal Kimia Riset*, 6(2), 141–153.
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., Adella, F., & Padang, N. (2018). Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma Cacao* L.). *EKSAKTA*, 19(2), 40–45. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss02/142>
- Pravasi, S. D. (2014). Acetic Acid. In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition* (pp. 33–35). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00216-5>
- Putri, D. M., & Lubis, S. S. (2020). Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Daun Kalayu (*Erioglossum rubiginosum* (Roxb.) Blum). *AMINA*, 2(3), 120–125.

- Rachmawaty, F. J., Mahardina, D. A. C., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. (2009). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *JKKI – Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 1(1).
- Rahayu, M. R., Muliarta, N. I., & Situmeang, Y. P. (2021). Acceleration of Production Natural Disinfectants from the Combination of Eco-Enzyme Domestic Organic Waste and Frangipani Flowers (*Plumeria alba*). *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, 5(1), 15–21. <https://doi.org/10.22225/seas.5.1.3165.15-21>
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan kajian Risiko*. IPB Press.
- Rahman, S., Haque, I., Goswami, R. C. D., Barooah, P., Sood, K., & Choudhury, B. (2021). Characterization and FPLC Analysis of Garbage Enzyme: Biocatalytic and Antimicrobial Activity. *Waste and Biomass Valorization*, 12(1), 293–302. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-00956-z>
- Rahmi, N., Khairiah, N., Rufida, R., Hidayati, S., & Muis, A. (2020). Pengaruh Fermentasi Terhadap Total Fenolik, Aktivitas Penghambatan Radikal dan Antibakteri Ekstrak Tepung Biji Teratai (Effect of Fermentation on Total Phenolic, Radical Scavenging and Antibacterial Activity of Waterlily (*Nymphaea pubescens* Willd.)). *Biopropal Industri*, 11(1), 9. <https://doi.org/10.36974/jbi.v11i1.5553>
- Rijal, M., Surati, Amir, I., Abdollah, A., Lessy, A. B., Ytatroman, A. S., & Tanama, N. (2021). *Eco-Enzyme Dari Limbah Tanaman Maluku* (P. Wally, A. S. Marwah, I. Rabiyaniti, & N. Kaliky, Eds.). LP2M IAIN Ambon. www.lp2miainambon.id
- Rini, A. R. S., Supartono, & Wijayati, N. (2017). Hand Sanitizer Ekstrak Kulit Nanas sebagai Antibakteri *Staphylococcus*

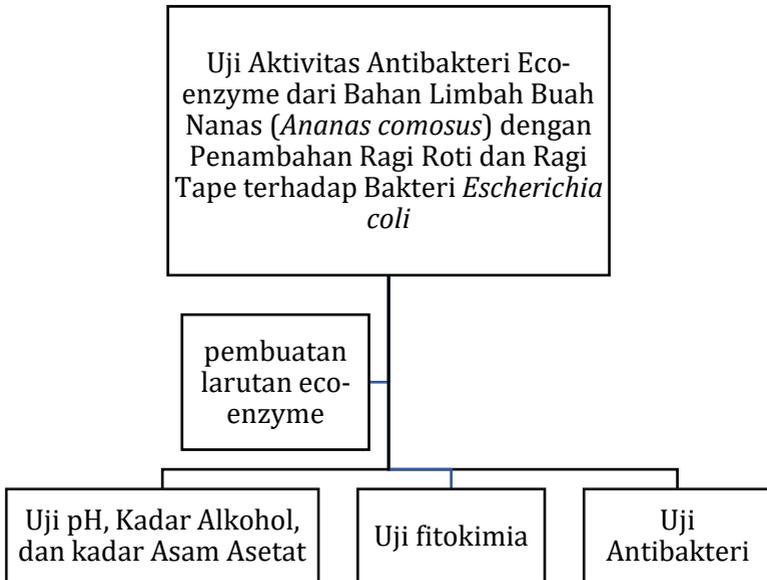
- areus dan *Escherichia coli*. *J. Chem. Sci*, 6(1).
<http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Rizka, S. O., & Anggita, D. (2017). *Studi Potensi Kulit Nanas Madu (Ananas comosus (L.) Merr.) Sebagai Bahan Anti Browning Buah Apel Manalagi (Malus sylvestris Mill.)*. Universitas Lampung.
- Sarabhai, S., Arya, A., & Arti Arya, C. (2019). Garbage enzyme: A study on compositional analysis of kitchen waste ferments. *The Pharma Innovation Journal*, 8(4), 1193–1197. www.thepharmajournal.com
- Saxena, A., & Kumar, J. (2020). Phytochemical Screening, Metal-Binding Studies and Applications of Floral Extract of *Sonchus oleraceus* as a Corrosion Inhibitor. *Journal of Bio-and Tribo-Corrosion*, 6(2). <https://doi.org/10.1007/s40735-020-00349-8>
- Sofyan, O. (2023). Uji Cemaran Mikroba dan Cemaran Logam Bolu Kukus Berbasis Pisang Ambon (*Musa acuminta Colla*) sebagai Camilan Alternatif Pada Pasien Hipertensi. *Jurnal Pharmacopoeia*, 2(1), 23–32.
- Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., Ikhlas Arsul, M., Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, J., Yasin Limpo No, J. H., Sombaopu Kabupaten Gowa, K., Selatan, S., & Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar, M. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera L*) Total Phenolic and Flavonoid Content of Grapevine (*Vitis vinifera L*) Leaves Ethanol Extract. In *J.Pharm.Sci* (Vol. 2, Issue 2).
- Suprayogi, D., Asra, R., Mahdalia, R., Studi Biologi, P., Sains dan Teknologi, F., & Jambi, U. (2022). Analisis Produk Eco Enzyme dari Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus l.*) dan

- Jeruk Berastagi(Citrus X sinensis L.). *Jurnal Redoks*, 7(1), 19–27.
- Susanti, A. R. E. H. (2021). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Tanaman Aloe vera sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap Propionibacterium acnes dan Staphylococcus aureus* [Skripsi]. UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Sutiknowati, L. I. (2016). Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Oseana*, XLI(4), 63–71.
- Syaron Manongko, P., Sangi, S., Momuat, I., Kimia, P., Mipa, F., & Ratulangi, S. (2020). Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *JURNAL MIPA*, 9(2), 6469.
- Ulfatu Rohmah, N., Puji Astuti, A., & Tri Wahyuni Maharani, E. (2020). Organoleptic Test Of The Ecoenzyme Pineapple Honey With Variations In Water Content. *Seminar Nasional Edusainstek*, 408–414.
- Vama, L., & Cherekar, M. N. (2020). Production, Extraction And Uses Of Eco-Enzyme Using Citrus Fruit Waste: Wealth From Waste. *Biotech. Env. Sc*, 22(2), 346–351.
- Viza, R. Y. (2022). Uji Organoleptik Eco-Enzyme dari Limbah Kulit Buah. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 5(1), 24–30.
<https://doi.org/10.31539/bioedusains.v5i1.3387>
- Wali, N. (2019). Pineapple (*Ananas comosus*). In *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* (pp. 367–373). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00050-3>
- Win, Y. C. (2011). Eco Enzyme (Activating the Earth's Self-Healing Power). In G. C. Har (Ed.), *Eco Enzyme*.
- Yanis, I. F., Alamsjah, F., Agustien, A., & Maideliza, T. (2020). Antibacterial Potency of Fresh Extract Leaves of Jamaican

Cherry (*Muntingia calabura* L.) in Inhibiting the Growth of *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Biologi UNAND*, 8(1), 14.
<https://doi.org/10.25077/jbioua.8.1.14-19.2020>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Cara Kerja



Lampiran 2. Uji Kadar Asam Asetat

No	Sampel	V NaOH I	V NaOH II	Rata-rata NaOH	Kadar Asam asetat
1	EE-1	2,7 mL	2,7 mL	2,7 mL	3,55%
2	EE-2	1,9 mL	1,9 mL	1,9 mL	2,5%
3	EE-3	2,5 mL	2,5 mL	2,5 mL	3,29%

Perhitungan uji kadar asam Asetat

Aquades = 300 mL : Substrat = 90g : Molase = 30g : Ragi = 3 gram

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{V}$$

$$M = \frac{90 \text{ g} + 30 \text{ g} + 3 \text{ g}}{180 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{300 \text{ mL}}$$

$$M = \frac{123 \text{ g}}{180 \text{ g/mol}} \times \frac{1000}{300 \text{ mL}}$$

$$M = 2,2778$$

Diketahui

N NaOH : 0,1 N BE Asam Asetat : 60 g/mol

Fp : 5 M sampel : 2,278

$$\% \text{ Asetat} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BE \text{ Asam Asetat} \times Fp}{(M \text{ Sampel} \times 1000)}$$

Kadar Asam asetat EE-1 (Tanpa Ragi)

$$\% \text{ EE} - 1 = \frac{2,7 \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 60 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 5}{(2,2778 \times 1000)} \times 100\%$$

$$\% \text{ EE-1} = 3,55\%$$

Kadar Asam Asetat EE-2 (Ragi Roti)

$$\% EE - 2 = \frac{1,9 \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 60 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 5}{(2,2778 \times 1000)} \times 100\%$$

$$EE-1 = 2,5\%$$

Kadar Asam Asetat EE-3 (ragi Tape)

$$\% EE - 3 = \frac{2,5 \text{ mL} \times 0,1 \text{ N} \times 60 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 5}{(2,2778 \times 1000)} \times 100\%$$

$$\% EE-3 = 3,29\%$$

Lampiran 3. Uji Fitokimia

1. Larutan *eco-enzyme* tanpa ragi (EE-1)

No.	Senyawa	Hasil uji	keterangan
1	Saponin	(-)	Busa yang terbentuk hanya sedikit dan tidak stabil, tidak bertahan selama 10 menit.
2	Alkaloid	(+)	Larutan berwarna kecoklatan dan terbentuk endapan berwarna coklat
3	Flavonoid	(+)	Larutan berwarna jingga-coklat
4	Tanin	(+)	Larutan berwarna coklat keruh kehijauan
5	Fenolik	(+)	Larutan berwarna coklat kehijauan

2. Larutan *eco-enzyme* ragi roti (EE-2)

No.	Senyawa	Hasil uji	keterangan
1	Saponin	(-)	Busa yang terbentuk hanya sedikit dan tidak stabil, tidak bertahan selama 10 menit.
2	Alkaloid	(+)	Larutan berwarna kecoklatan dan terbentuk endapan berwarna coklat
3	Flavonoid	(+)	Larutan berwarna jingga-coklat
4	Tanin	(+)	Larutan berwarna coklat keruh kehijauan
5	Fenolik	(+)	Larutan berwarna coklat kehijauan

3. Larutan *eco-enzyme* ragi tape (EE-3)

No.	Senyawa	Hasil uji	keterangan
1	Saponin	(-)	Busa yang lumayan banyak tetapi tidak stabil tidak bertahan selama 10 menit.
2	Alkaloid	(+)	Larutan berwarna kecoklatan dan terbentuk endapan berwarna coklat
3	Flavonoid	(+)	Larutan berwarna jingga-coklat
4	Tanin	(+)	Larutan berwarna coklat keruh kehijauan
5	Fenolik	(+)	Larutan berwarna coklat kehijauan

Lampiran 4. Uji Antibakteri

Sampel	Kontrol positif	Tanpa ragi (EE-1)	Ragi roti (EE-2)	Ragi tape (EE-3)
Diameter <i>Paper disc</i> (mm)	7	7	7	7
D1 replikasi 1 (mm)	0	8,25	9,8	9,75
D2 replikasi 1 (mm)	0	10,2	8,25	9,0
Diameter zona hambat (mm)	0	2,225	2,025	2,375
D1 replikasi 2 (mm)	9,35	9,4	0	0
D2 replikasi 2 (mm)	10,8	9,2	0	0
Rata-rata (mm)	10,975	10,225	9,1	11,05
Diameter zona hambat (mm)	3,075	2,3	0	0
rata-rata diameter zona hambat (mm)	1,538 ± 2,174	2,263 ± 0,053	1,013 ± 1,432	1,188 ± 1,679

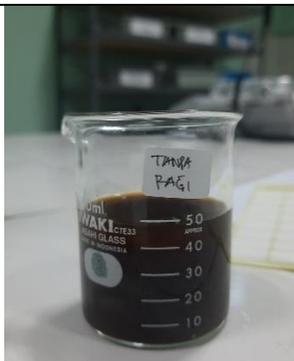
Rumus perhitungan diameter zona hambat

$$\text{Diameter zona hambat (D)} = \frac{D1 + D2}{2} - D_{\text{paper disc}}$$

$$\text{Rata - Rata } D = \frac{\text{Dreplikasi 1} + \text{Dreplikasi 2}}{2}$$

Lampiran 5. Dokumentasi

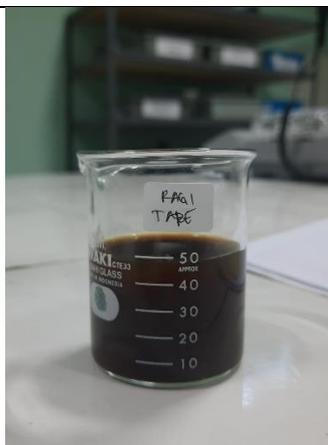
	
Nanas	Kulit nanas
	
molase	ragi



EE-1



EE-2



EE-3



Uji pH EE-1



Uji pH EE-3



pH saat titrasi Asam asetat



pH saat titrasi asam asetat



pH saat titrasi asam asetat

	
Uji kadar Alkohol EE-2	Uji Kadar alcohol EE-3
	
Uji antibakteri replikasi 1	Uji antibakteri replikasi 2

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. Identitas Diri

1. Nama : Abdur Rozaq Afifi
2. Tempat, Tanggal, Lahir : Kudus, 1 November 2000
3. Alamat : Desa Pedawang, Rt 3 RW 3, Kec. Bae, Kab. Kudus.
4. No. telepon : 081548363182
5. Email : maunhasan4@gmail.com

B. Riwayat Pendidikan

1. Pendidikan Formal
 - a. TK IT Umar bin Khottob (2005-2007)
 - b. MI NU TQ TBS (2007-2013)
 - c. MTs TYQ (2013-2016)
 - d. MAN 1 Kudus (2016-2019)