

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jumlah penduduk yang terus mengalami peningkatan tiap tahunnya, mengakibatkan tingginya konsumsi bahan pangan dan pada akhirnya meningkatkan jumlah sampah (Rohmadi et al., 2022). Berdasarkan data dari Sistem Informasi Pengolahan Sampah Nasional (SIPSN) pada tahun 2024 timbulan sampah mencapai 32.858.304,80 ton/tahun dari 303 Kabupaten/kota se-Indonesia. Berdasarkan jenis komposisi sampah, sebanyak 39,58% timbulan sampah yang ada di Indonesia berasal dari sampah organik berupa sisa makanan (Sistem Informasi Pengolahan Sampah Nasional 2024).

Salah satu sumber limbah organik terbesar adalah limbah sayur dan limbah buah-buahan. Umumnya, manusia hanya memanfaatkan bagian yang dapat dikonsumsi seperti daging buah ataupun daun pada sayuran, sementara bagian lain seperti kulit buah ataupun batang sayur langsung dibuang tanpa adanya pengolahan lebih lanjut. Hal ini dapat menyebabkan penumpukan sampah organik di tempat pembuangan akhir (TPA) dan dapat menyebabkan berbagai permasalahan lingkungan, seperti emisi gas rumah kaca, bau tidak sedap dan potensi pencemaran lingkungan (Susilowati et al., 2021 dalam Langsa et al., 2024). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengurangi dampak negatif dari sisa bahan organik yaitu dengan diolah menjadi ekoenzim.

Ekoenzim pertama kali diperkenalkan oleh Dr. Rosukon Poompanvong dari Thailand yang merupakan *founder* Thai Organic Farming Association. Ekoenzim adalah larutan fermentasi yang dihasilkan dari campuran limbah organik, gula, dan air. Ekoenzim dibuat menggunakan bahan baku yang mudah didapat, serta proses fermentasi yang umumnya dilakukan selama 3 bulan (Nangoi et al., 2022). Proses fermentasi dari limbah sayur dan buah dalam kondisi anaerob melibatkan beberapa mikroorganisme seperti bakteri *Acetobacter* sp. yang menghasilkan asam asetat dan *Lactobacillus* sp. yang menghasilkan asam laktat (Madigan et al., 2012 dalam Mahdia et al., 2021).

Ekoenzim yang telah siap panen atau ekoenzim yang baik harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu pH berkisar 3-4, warna larutan yang cerah, dan memiliki aroma yang segar dan asam khas fermentasi (Hasanah, 2020; Hemalatha & Visantini, 2020). Pembuatan ekoenzim tidak hanya bertujuan untuk mengurangi akumulasi limbah organik, tetapi juga untuk menciptakan alternatif pembersih yang ramah lingkungan (Hikmatriona et al., 2022 dalam Firja et al., 2024). Selain sebagai pembersih alami, larutan ekoenzim juga memiliki potensi sebagai agen antibakteri karena mengandung



ig terdapat pada bahan ekoenzim seperti sayur dan kulit buah. tara lain flavonoid, alkaloid, tanin, ataupun saponin yang diketahui oran sel bakteri, menghambat sintesis protein, serta mengganggu (Yanti dan Chandra 2020 dalam Salsabila et al., 2024).

ah organik yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar n adalah wortel dan sawi putih. Wortel merupakan salah satu gandung senyawa flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat

dimanfaatkan sebagai antibakteri (Aprianto et al., 2023). Sawi putih mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri (Khusniyah dan Rohmah., 2019). Tidak terbatas pada limbah sayur, kulit buah juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan ekoenzim. Kulit pisang mengandung metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang memiliki sifat antibakteri (Ariani dan Niah., 2019). Sementara itu, kulit nanas memiliki kandungan flavonoid, dan tanin yang bersifat sebagai agen antibakteri (Sumiati et al., 2021).

Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* merupakan dua mikroorganisme yang sering digunakan sebagai bakteri uji dalam penelitian antibakteri. *Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri gram positif berbentuk bola dengan diameter antara 0,7 hingga 1,2 μm , tersusun dalam kelompok yang tidak beraturan dan berbentuk seperti anggur. *Staphylococcus aureus* termasuk dalam kategori bakteri anaerobik fakultatif yang tidak membentuk spora dan tidak memiliki kemampuan bergerak. Meskipun beberapa jenis *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang terdapat pada kulit dan membran mukosa manusia, akan tetapi jika kuantitasnya berlebihan dapat menyebabkan diare dan gangguan saluran pencernaan dan dikenal sebagai bakteri penyebab infeksi yang paling umum pada manusia (Rizki et al., 2024).

Disisi lain, *Escherichia coli* adalah salah satu jenis bakteri berbentuk batang yang termasuk dalam kategori bakteri gram negatif. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih dan juga dapat menjadi penyebab diare (Aritonang et al., 2023). Terdapat perbedaan pada penyusun dinding sel dari kedua bakteri uji. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel yang terdiri atas sitoplasma, peptidoglikan yang mengandung lipid dan polisakarida, serta bagian terluar dari peptidoglikan terdapat asam teikhoat. Sedangkan bakteri *Escherichia coli* termasuk golongan bakteri gram negatif yang struktur dinding selnya terdiri atas 3 lapisan yaitu lapisan pertama lipoprotein, lapisan kedua lipopolisakarida dan fosfolipid, lapisan terluar yaitu peptidoglikan yang tipis (Nabila dan Advinda, 2022). Pemilihan kedua bakteri ini dalam penelitian ini didasarkan pada karakteristiknya sebagai patogen yang umum ditemukan serta perannya dalam infeksi yang berhubungan dengan kebersihan dan kesehatan manusia. *S.aureus* mewakili bakteri gram positif yang memiliki potensi resistensi antibiotik, sedangkan *E.coli* mewakili bakteri gram negatif yang sering menjadi indikator kontaminasi mikroba. Dengan demikian, pengujian aktivitas antibakteri ekoenzim terhadap kedua bakteri ini dapat memberikan gambaran yang lebih luas mengenai efektivitas ekoenzim dalam menghambat pertumbuhan bakteri dari dua kelompok berbeda.

Pengolahan limbah organik menjadi ekoenzim tidak hanya memberikan solusi an limbah, tetapi juga mendukung pengembangan produk ramah bioteknologi. Pengujian aktivitas antimikroba pada ekoenzim ring dalam mengevaluasi potensinya untuk digunakan sebagai sih rumah tangga, atau bahkan aplikasi medis sederhana. elakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi oenzim yang dihasilkan dari limbah kulit buah (pisang, nanas) dan , sawi putih). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan



kontribusi dalam memanfaatkan limbah organik menjadi produk bernilai tambah yang mendukung konsep pengelolaan limbah berkelanjutan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu :

1. Menganalisis potensi ekoenzim berbahan limbah sayur dan buah sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Menganalisis efektivitas ekoenzim terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri pada lingkungan yang tercemar mikroba.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - Maret 2025. Uji fitokimia larutan ekoenzim dilakukan di Laboratorium Biokimia, Departemen Kimia. Untuk pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat gelas (tabung reaksi, erlenmeyer, gelas kimia, cawan petri, gelas ukur, dan batang pengaduk), non-gelas (pipet tetes, jarum ose, pinset, jangka sorong, magnetic stirrer, spatula, dan rak tabung reaksi, gegep, plat tetes), alat instrumen (hot plate, inkubator, oven, spektrofotometer) dan alat non-instrumen (ekas, timbangan digital, bunsen, mikropipet dan autoklaf).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan ekoenzim limbah sayur wortel, larutan ekoenzim limbah sayur sawi putih, larutan ekoenzim limbah kulit pisang dan larutan ekoenzim limbah kulit nanas, isolat bakteri uji berupa *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), pereaksi Dragendorff, serbuk magnesium (Mg), HCl 37%, FeCl₃, pereaksi Lieberman Burchard, *chloramphenicol*, aquades, blank disc (kertas cakram), *cotton swab*, aluminium foil.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Ekoenzim

Prosedur pembuatan ekoenzim yaitu:

1. Air bersih sebanyak 600 mL dituangkan kedalam botol plastik berukuran 1.500 mL. Lalu ditambahkan limbah sayur sebanyak 300 gr dan gula sebanyak 100 gr. Semua bahan dimasukkan ke dalam botol dengan tidak memenuhi volume botol, karena dibutuhkan ruang untuk gas yang terbentuk dari hasil fermentasi.
2. Lalu campuran tersebut diaduk sehingga gula larut dengan air sampai homogen. Setelah semua bahan tercampur dengan baik, segera tutup botol dengan rapat agar udara luar tidak masuk.
3. Ekoenzim yang telah dibuat disimpan di tempat yang tidak terkena oleh sinar matahari, sehingga tidak mengganggu proses fermentasi.
4. Setiap hari setelah pembuatan, tutup botol dibuka selama beberapa detik untuk membuang gas yang terbentuk.
5. Fermentasi ekoenzim dilakukan selama 30 hari (satu bulan).

2.3.2 Uji Fitokimia



Optimized using
trial version
www.balesio.com

an untuk menguji keberadaan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin m larutan ekoenzim (Salsabila et al., 2024).

alkaloid dilakukan dengan memasukan sebanyak 1 mL larutan abung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff. aloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan warna orange-Fajrin dan Susila, 2019).

2. Analisis Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan memasukan sebanyak 1 mL ekoenzim ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan seujung spatula serbuk magnesium (Mg) dan 3 tetes HCl 37%, kemudian dilewatkan di atas api bunsen sampai serbuk Mg larut. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah (Iskandar et al., 2020).

3. Analisis Tanin

Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan memasukan sebanyak 1 mL ekoenzim ke dalam tabung reaksi kemudian direaksikan dengan 3-5 tetes FeCl_3 . Adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan adanya perubahan warna ekoenzim menjadi warna biru hitam atau hijau-hitam (Halimu et al., 2017).

4. Analisis Steroid

Identifikasi senyawa steroid dilakukan dengan memasukkan sebanyak 2 mL ekoenzim ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna merah ungu yang menunjukkan kandungan senyawa steroid (Irianto et al., 2023).

5. Analisis Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan memasukkan 1 mL ekoenzim ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 tetes aquades panas. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 30 detik (Susanti et al., 2021).

2.3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan kaca disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 2 jam, sedangkan untuk jarum ose disterilkan diatas nyala api bunsen hingga panas membara. Untuk alat gelas dan media pertumbuhan bakteri disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar*

Sebanyak 3,4 gr media MHA dilarutkan ke dalam 100 mL aquades di dalam erlenmeyer. Media kemudian dipanaskan dan dihomogenkan menggunakan *hot plate* dengan memasukkan *magnetic stirrer*. Selanjutnya mulut erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

3. Penyiapan Bakteri Uji



inakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yang am positif dan gram negatif. Kedua bakteri uji diremajakan terlebih a ditumbuhkan pada media *Mueller Hinton Agar* miring dan 4 jam pada suhu 37°C . Isolat bakteri kemudian disuspensikan l fisiologi 0,9% dan diukur kekeruhannya menggunakan gan panjang gelombang 580 nm hingga diperoleh nilai transmittan

4. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (blank disc). Suspensi masing-masing bakteri uji yang telah dibuat kemudian diinokulasikan menggunakan *cotton swab* secara merata di atas permukaan media *Mueller Hinton Agar* yang telah memadat. Selanjutnya masing-masing *blank disc* yang telah direndam selama ± 15 menit dengan masing-masing sampel serta kontrol positif (Chloramphenicol) dan kontrol negatif (Aquades) diletakkan secara aseptis menggunakan pinset di atas permukaan media *Mueller Hinton Agar* yang telah memadat. Selanjutnya diinkunasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

