

SKRIPSI

**PENGARUH *ECO-ENZYME* KULIT JERUK DAN NANAS
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
BAKTERI *E.coli***



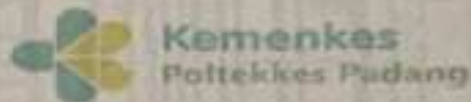
**DINDA MAHARANI
211210526**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN SANITASI LINGKUNGAN
JURUSAN KESEHATAN LINGKUNGAN
KEMENKES POLTEKKES PADANG
2025**

SKRIPSI

**PENGARUH *ECO-ENZYME* KULIT JERUK DAN NANAS
DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN
BAKTERI *E.coli***

Diajukan pada Program Studi Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan
Kemenkes Poltekkes Padang sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan



**DINDA MAHARANI
211210526**

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN SANITASI LINGKUNGAN
JURUSAN KESEHATAN LINGKUNGAN
KEMENKES POLTEKKES PADANG
2025**

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi "Pengaruh *Eco-enzyme* Kulit Jeruk dan Nanas
dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E. coli*"

Disusun oleh

Nama : Dinda Maharani

NIM : 211210526

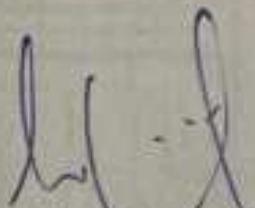
Telah disetujui oleh pembimbing pada tanggal :

Padang, 20 Juli 2025

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



(Dr. Muchsin Riwanto, SKM, M.Si)

NIP. 19700629 199303 1 001



(Asep Irfan SKM, M.Kes)

NIP. 19640716 198901 1 001

Padang, 20 Juli 2025

Ketua Prodi Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan



(Darvel, SKM, M.Epid)

NIP. 19800914 200604 1 012

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

Pengaruh *Eco-enzyme* Limbah Kulit Jeruk dan Nanas dalam
Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E. coli*

Disusun Oleh

Dinda Maharani

211210526

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal : 22 Juli 2025

SUSUNAN DEWAN PENGUJI

Ketua,

R. Firwandri Marza, SKM, M.Kes

NIP. 19650604 198903 1 009

Anggota,

Afridon, ST, M.Si

NIP. 19790910 200701 1 016

Anggota,

Dr. Muchsin Riviwanto, SKM, M.Si

NIP. 19700629 199303 1 001

Anggota,

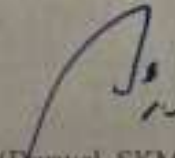
Asep Irfan SKM, M.Kes

NIP. 19640716 198901 1 001



Padang, 30 Juli 2025

Ketua Prodi Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan


(Darwel, SKM, M.Epid)

NIP. 19800914 200604 1 012

PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama Lengkap : Dinda Maharani
NIM : 211210526
Tempat/Tanggal Lahir : Palembang/19 Juli 2004
Tahun Masuk : 2021
Nama PA : Dr. Muchsin Riviwanto, SKM, M.Si
Nama Pembimbing Utama : Dr. Muchsin Riviwanto, SKM, M.Si
Nama Pembimbing Pendamping : Asep Irfan SKM, M.Kes

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan hasil Karya Ilmiah saya, yang berjudul : "Pengaruh *Eco-Enzyme* Kulit Jeruk dan Nanas dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E.coli*"

Apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya penjiplakan (plagiat), maka saya bersedia menerima sanksi akademik.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Padang, 31 Juli 2025

Yang Menyatakan



(Dinda Maharani)

NIM. 211210526

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya penulis sendiri, dan semua sumber yang dikutip maupun dirujuk telah penulis nyatakan dengan benar.

Nama : Dinda Mharani
NIM : 211210526

Tanda Tangan



Tanggal : 20 Juli 2025

HALAMAN PENYERAHAN SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Kemenkes Poltekkes Padang, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dinda Maharani
NIM : 211210526
Program Studi : Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan
Jurusan : Kesehatan Lingkungan

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Kemenkes Poltekkes Padang **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas Skripsi saya yang berjudul:

Pengaruh *Eco-Enzyme* Kulit Jeruk dan Nanas dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E.coli*.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Kemenkes Poltekkes Padang berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan Skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Padang
Pada tanggal : 31 Juli 2025

Yang menyatakan,



(Dinda Maharani)

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Pengaruh *Eco-Enzyme* Kulit Jeruk dan Nanas dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E.coli*”. Penulis skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Program Studi Sarjana Terapan Sanitasi lingkungan pada Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Kesehatan Lingkungan Kemenkes Poltekkes Padang. Skripsi ini terwujud atas bimbingan dan pengarahan dari Bapak Dr. Muchsin Riviwanto, SKM, M.Si selaku pembimbing utama dan Bapak Asep Irfan SKM, M.Kes selaku pembimbing pendamping serta bantuan dari berbagai pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Penulis pada kesempatan ini menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Ibu Renidayati, S.Kp, M.Kep, Sp. Jiwa selaku Direktur Kemenkes Poltekkes Padang.
2. Bapak Dr. Muchsin Riviwanto, SKM, M.Si selaku Ketua Jurusan Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan Jurusan Kesehatan Lingkungan Kemenkes Poltekkes Padang.
3. Darwel, SKM, M.Epid selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan Jurusan Kesehatan Lingkungan Kemenkes Poltekkes Padang.
4. Bapak/Ibu Dosen Staf Jurusan Kesehatan Lingkungan Kemenkes Poltekkes Padang yang telah membimbing dan membantu selama perkuliahan di Jurusan Kesehatan Lingkungan Kemenkes Poltekkes Padang.
5. Teristimewa kepada kedua orang tua dan keluarga tercinta yang telah memberikan dukungan baik moril maupun material serta doa'a yang tulus sehingga selama proses penyusunan skripsi ini dapat menyelesaikan dengan sebaik mungkin.

6. Kepada sahabat dan teman-teman yang selalu memberikan semangat dan dukungan serta do'a sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik mungkin

Akhir kata, penulis menyadari akan keterbatasan kemampuan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat bagi pengembangan ilmu dan membantu penulis melakukan penelitian.

Padang, 20 Juli 2025

Penulis

Dinda Maharani

Program Studi Sarjana Terapan Sanitasi Lingkungan, Jurusan Kesehatan Lingkungan, Kemenkes Poltekkes Padang Skripsi, Juli 2025

Dinda Maharani

Pengaruh *Eco-Enzyme* Kulit Jeruk dan Nanas dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *E. Coli*

ABSTRAK

Upaya pencegahan masuknya *E. coli* yang bersifat patogen yang menimbulkan infeksi dapat dilakukan dengan cara menekan pertumbuhan bakteri tersebut. Bahan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut menggunakan *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas yang bersifat antibakteri dan secara tidak langsung mengurangi sampah organik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada media NA.

Penelitian eksperimen semu menggunakan cairan *eco-enzyme* dari kulit jeruk dan nanas dengan dan tanpa penambahan EM-4. Konsentrasi *eco-enzyme* yang digunakan 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Parameter yang diukur adalah diameter zona hambatan yang terbentuk.

Hasil penelitian diperoleh uji-t pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk dan kulit nanas pada konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % tidak ada perbedaan daya hambatnya, kecuali pada konsentrasi 100 % dimana ($p\text{ value} = <0,05$). Dari uji one way anova diketahui perbedaan daya hambat bakteri *E. coli* dibandingkan dengan konsentrasi yang diuji, perbedaan yang signifikan terdapat pada *eco-enzyme* tanpa penambahan EM-4. Kekuatan daya hambat bakteri *E. coli* tergolong rendah sampai sedang. Hanya *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 yang tergolong sedang.

xiii + 61 halaman + 10 tabel + 4 gambar + 7 lampiran

Kata Kunci : *Eco-enzyme*, Pertumbuhan, *E. coli*

Daftar Pustaka : 70 (2010-2025)

Applied Bachelor of Environmental Sanitation Study Program Department of Environmental Health, Ministry of Health Polytechnic of Padang Thesis, July 2025

Dinda Maharani

The Effect of Orange and Pineapple Peel *Eco-Enzyme* in Inhibiting the Growth of *E. coli* Bacteria

ABSTRACT

Preventing the entry of pathogenic *E. coli*, which can cause infections, can be done by suppressing its growth. The antibacterial *eco-enzymes* from orange and pineapple peels are used to inhibit this growth and indirectly reduce organic waste.

This study aims to determine the effect of orange and pineapple peel *eco-enzymes* in inhibiting the growth of *E. coli* bacteria in NA media.

This quasi-experimental study used *eco-enzyme* liquid from orange and pineapple peels with and without the addition of EM-4. The *eco-enzyme* concentrations used were 25 %, 50 %, 75 %, and 100 %. The parameter measured was the diameter of the inhibition zone formed.

The results of the study obtained a t-test of the effect of orange peel *eco-enzyme* and pineapple peel at concentrations of 25 %, 50 %, and 75 % showed no difference in inhibitory power, except at a concentration of 100 % where (*p value* <0.05). A one-way ANOVA test revealed differences in the inhibitory power of *E. coli* bacteria compared to the tested concentrations. A significant difference was found in the *eco-enzyme* without the addition of EM-4. The inhibitory power of *E. coli* bacteria was classified as low to moderate. Only the pineapple peel *eco-enzyme* without EM-4 was classified as moderate.

xiii + 61 pages + 10 tables + 4 figures + 7 appendices

Keywords : *Eco-enzyme*, Growth, *E. coli*

References : 70 (2010–2025)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PENYERAHAN SKRIPSI	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Ruang Lingkup.....	6
E. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Bakteri <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	8
B. Pengertian <i>Eco-enzyme</i> (EE).....	16
C. Manfaat <i>Eco-enzyme</i>	17
D. Pembuatan <i>Eco-enzyme</i>	22
E. Indikator sudah Terbentuknya <i>Eco-enzyme</i>	25
F. Zat yang Terkandung dalam <i>Eco-enzyme</i>	26
G. Penggunaan EM-4 dalam Pembuatan <i>Eco-enzyme</i>	27
H. Media NA.....	28
I. Kerangka Teori.....	29
J. Kerangka Konsep	29
K. Definisi Operasional.....	30
L. Hipotesis.....	31
BAB III METODE PENELITIAN	32
A. Jenis/Desain Penelitian.....	32
B. Waktu dan Tempat.....	32
C. Obejek Penelitian	32
D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data	33
E. Prosedur Penelitian.....	34
F. Pengolahan Data.....	35
G. Pengolahan Data.....	41
H. Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
A. Hasil	42
B. Pembahasan.....	51

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	60
A. Kesimpulan	60
B. Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Definisi operasional.....	30
Tabel 2.	Penentuan konsentrasi larutan <i>eco-enzyme</i> dibuat dengan campuran larutan <i>eco-enzyme</i> (X) di dalam pelarut aquadest (Y).....	37
Tabel 3.	Diameter zona hambatan menggunakan <i>eco-enzyme</i> kulit jeruk (dalam mm)	45
Tabel 4.	Diameter zona hambatan menggunakan <i>eco-enzyme</i> kulit nanas (dalam mm).....	45
Tabel 5.	Hasil Analisa Uji -T untuk <i>Eco-enzyme</i> Kulit Jeruk Konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%	46
Tabel 6.	Hasil Analisa Uji -T untuk <i>Eco-enzyme</i> Kulit Nanas Konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%	47
Tabel 7.	Hasil Uji One Way ANOVA untuk <i>Eco-enzyme</i> Kulit Jeruk tanpa EM-4	48
Tabel 8.	Hasil Uji One Way ANOVA untuk <i>Eco-enzyme</i> Kulit Jeruk dengan EM-4	49
Tabel 9.	Hasil Uji One Way ANOVA untuk <i>Eco-enzyme</i> Kulit Nanas tanpa EM-4	49
Tabel 10.	Hasil Uji One Way ANOVA untuk <i>Eco-enzyme</i> Kulit Nanas dengan EM-4	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka teori	29
Gambar 2. Kerangka konsep	30
Gambar 3. Lokasi terbentuknya zona hambatan	39
Gambar 4. Ilustrasi perhitungan diameter zona hambat bakteri	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Alat dan bahan (UPTD Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatera Barat dan Laboratorium Kemenkes Poltekkes Padang).....	68
Lampiran 2	: Pelaksanaan penelitian di Laboratorium Kemenkes Poltekkes Padang dan Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatra Barat.....	78
Lampiran 3	: Tabel hasil pengamatan pH, warna dan bau <i>eco-enzyme</i>	87
Lmapiran 4	: Surat izin penelitian	88
Lampiran 5	: Data hasil pengukuran diameter zona hambatan.....	93
Lampiran 6	: Lembar Konsultasi Skripsi.....	97
Lampiran 7	: Master tabel.....	99
Lampiran 8	: Hasil output SPSS	106

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Escherichia coli (*E. coli*) terdapat di usus manusia atau hewan yang akan dikeluarkan melalui tinja. Mikroorganisme patogen yang terkandung dalam tinja dapat menularkan beragam penyakit bila masuk tubuh manusia, dalam satu gram tinja dapat mengandung satu miliar partikel virus infeksius yang mampu bertahan hidup selama beberapa minggu pada suhu dibawah 10°C. Terdapat empat mikroorganisme patogen yang terkandung dalam tinja yaitu virus, protozoa, cacing dan bakteri yang umumnya banyak ditemukan adalah bakteri jenis *E. coli*. Hainil¹, menyatakan bahwa *E. coli* merupakan bakteri yang hidup di dalam usus manusia, yaitu sebagai flora normal, atau dapat disebut kumpulan mikroorganisme, yang secara alami terdapat pada tubuh manusia normal dan sehat.

Bakteri *E. coli* masuk ke dalam tubuh manusia dapat melalui cemaran pada makanan. Cemaran dalam makanan ini, disebabkan tidak amannya pengolahan makanan yang dipengaruhi faktor lingkungan seperti fisik, biologi dan kimia serta faktor perilaku dari pengolah makanan (penjamah). Disamping itu, kontaminasi makanan dapat juga disebabkan dari bahan makanan dan peralatan yang digunakan dalam proses memasak maupun peralatan makan. Oleh karena itu, kualitas bahan makanan yang digunakan harus berkualitas baik. Makanan yang mengandung mikroba tidak aman untuk dikonsumsi dan menyebabkan gangguan kesehatan atau penyakit sehingga disebut *Foodborne diseases*. Menurut Fatimah², *foodborne diseases* terkontaminasi oleh bakteri patogen yang memproduksi toksin dan berkembang biak sehingga dapat membahayakan kesehatan manusia.

E. coli dapat ditemukan dalam makanan atau minuman yang tidak higienis yang masuk kedalam tubuh manusia dan dapat menyebabkan gejala seperti kolera, diare dan berbagai macam penyakit pencernaan lainnya. Diare hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan dunia termasuk di Indonesia. Dalam penelitian Sugiarto³, dijelaskan bahwa diare adalah salah satu penyakit yang berbahaya karena dapat menyebabkan kematian yang disebabkan kondisi sanitasi lingkungan yang buruk, persediaan air yang tidak memadai, dan pendidikan terbatas. Walaupun

begitu, Safliya I⁴, dalam penelitiannya menyebutkan ada juga strain *E. coli* hidup tidak berbahaya di usus dan jarang menyebabkan penyakit pada individu yang sehat.

Hasil penelitian Walid⁵, menemukan bahwa masuknya bakteri *E. coli* ke dalam tubuh bisa melalui makanan yang terkontaminasi bakteri. *E. coli* pernah ditemukan pada makanan di rumah makan dan berdasarkan perhitungan presentase sampel positif pada makanan adalah 50%. Juga pada makanan jajanan cilok yang diperdagangkan, hasil penelitian Siwi dan Mogea⁶, diperoleh informasi bahwa jumlah bakteri *E. coli* terbanyak ditemukan dalam saus kacang cilok. Bakteri *E. coli* juga bisa ditemukan pada air minum, dimana dalam penelitian Herlina⁷, ditemukan ada sampel air minum yang terbukti terkontaminasi bakteri *E. coli*, sehingga secara mikrobiologis air minum tersebut tidak aman untuk dikonsumsi, dikarenakan tidak sesuai dengan Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 32 tahun 2017. Keputusan Menteri tersebut menyatakan bahwa batas aman total bakteri *E. coli* sebesar 0 cfu/ml dan tidak terdapat warna fluorescent pada tabung. Hal ini juga disebutkan dalam Permen no 2 tahun 2023 yang mengatur tentang Peraturan Pelaksanaan Peraturan Pemerintah Nomor 66 Tahun 2014 tentang Kesehatan Lingkungan⁸.

Upaya pencegahan masuknya *E. coli* yang bersifat patogen yang menimbulkan infeksi dapat dilakukan dengan cara menekan pertumbuhan bakteri tersebut. Sebagai parameter adalah daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan mengukur diameter zona bening. Jadi daya hambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan diameter zona bening. Beberapa hasil penelitian yang sudah dilakukan antara lain Farhan⁹, menggunakan ekstrak daun tin (*Ficus carica*.L) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan aktivitas antibakteri *E. coli* pada konsentrasi 20 % dimana diameter hambatan sebesar 10,50 mm dengan kategori kuat (10-20 mm). Selanjutnya juga penelitian Rosalina dan Nurmaulawati¹⁰, menggunakan ekstrak etanol herba krokot (*Portulaca oleracea*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan konsentrasi terbaik pada konsentrasi 100 % dengan rata-rata daya hambat $16,6 \pm 1,52$ mm yang tergolong kuat. Bahan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *E.*

coli tersebut termasuk susah di dapatkan jika dibandingkan menggunakan limbah organik kulit buah.

Mengingat bakteri *E. coli* juga ditemukan pada sampah organik, maka berbagai penelitian dilakukan untuk mengurangi sampah organik, seperti penelitian Rusdiana dan Fariroh¹¹, mengolah sampah organik menjadi kompos. Penelitian Rahmat¹², menunjukan sampah organik dapat diolah menjadi energi terbarukan. Marlina¹³, melaporkan sampah organik dapat diolah menjadi pupuk cair. Selanjutnya Yulistiar dan Manggalou¹⁴, melaporkan pengolahan sampah organik menjadi *eco-enzyme*.

Salah satu sampah organik tersebut adalah kulit buah. Disamping dapat diolah menjadi kompos, sampah organik juga dapat diolah menjadi *eco-enzyme* yang merupakan cairan serbaguna dan ramah lingkungan. Sampah organik lain yang juga dapat diolah menjadi *eco-enzyme* di lingkungan kita, seperti sisa-sisa makanan, sayur, tulang ikan, serta dedaunan yang rontok dari pohon. Sampah tersebut merupakan sampah organik karena berasal dari sisa makhluk hidup dan sifatnya dapat kita daur ulang, dengan mengolah sampah organik ini menjadi *eco-enzyme* berarti kita memanfaatkannya menjadi sesuatu yang lebih berguna dan memiliki nilai tambah. Hal ini sesuai dengan tujuan pengolahan sampah yang dikemukakan oleh Ginting¹⁵, yaitu menjadi bahan yang bernilai ekonomis (pemanfaatan sampah), dan tidak berbahaya untuk lingkungan manusia.

Berbagai macam sampah organik kulit buah dan sayuran bisa digunakan sebagai bahan baku pembuatan *eco-enzyme*. Bahan baku kulit buah seperti sisa kulit nanas, kulit jeruk, kulit pisang, kulit tomat, kulit kopi, kulit pepaya, kulit sirsak, kulit semangka, kulit rambutan, kulit buah naga, juga sisa anggur dan apel. Sampah sayuran yang digunakan sebagai bahan baku adalah daun mimba, sereh wangi, tongkol jagung, labu siam, kangkung, bayam, sawi, terong, paku sayur dan lele. Menurut Vama and Cherekar¹⁶, sampah kulit buah lebih banyak digunakan sebagai bahan baku utama pembuatan *eco-enzyme* dibandingkan dengan sampah sisa sayuran yang hanya digunakan sebagai campuran.

Eco-enzyme diketahui memiliki aktifitas antibakteri disebabkan oleh beberapa hal. Adanya aktivitas antibakteri *eco-enzyme* disebabkan adanya

kandungan asam asetat yang dihasilkan selama proses fermentasi *eco-enzyme*. Dijelaskan lagi bahwa *eco-enzyme* yang merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sampah organik, gula, dan air. Berdasarkan Mavani¹⁷, salah satu kandungan dalam *eco-enzyme* adalah asam asetat (H_3COOH) yang dapat membunuh bakteri dengan cara merusak membran sel dengan gradien pH, dan menyebabkan gangguan aktivitas metabolisme sel.

Proses fermentasi *eco-enzyme* menyebabkan hidrolisis bahan organik menjadi asam asetat. Semakin meningkat kandungan bahan organik dan fermentasi maka akan berpengaruh terhadap tinggi rendahnya kandungan asam asetat pada *eco-enzyme*. Selanjutnya menurut Tallei¹⁸, selain asam asetat, fermentasi *eco-enzyme* dari kulit buah juga menghasilkan etanol yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Berdasarkan penelitian Ginting¹⁹, bahwa hasil skrining fitokimia *eco-enzyme* dari kulit buah dengan fermentasi 3 bulan positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, tanin, dan flavonoid. Flavonoid, tanin, saponin, asam laktat, dan pH asam memiliki peran sebagai antibakteri. Selanjutnya Vama and Cherekar¹⁶, peran flavonoid, tanin, saponin, asam laktat, dan pH asam adalah menghambat sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membran, dan energi metabolisme sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri *S. aureus*.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa *eco-enzyme* memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen, seperti *S. aureus* dan *P. acnes*. Pada penelitian Ramadani²⁰, diketahui hasil penelitian menggunakan *eco-enzyme* yang berasal dari kulit buah nanas mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat, yaitu *S. aureus* dan *P. acnes* dengan nilai KHM 50 % karena mengandung tanin dan saponin. Juga dari penelitian Ginting¹⁹, diketahui *eco-enzyme* yang berasal dari limbah kulit buah nanas, pisang, dan papaya dapat digunakan sebagai disinfektan alami pada kandang babi karena memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan perbandingan larutan *eco-enzyme* 1:30 dalam air. Selanjutnya juga penelitian Rahayu MR²¹, dilaporkan bahwa disinfektan alami juga dapat berasal dari *eco-enzyme* kombinasi limbah organik (kulit rambutan, tongkol jagung dan kulit labu siam) dan bunga kamboja (*Plumeria alba*). *Eco-*

enzyme kombinasi limbah dan bunga tersebut memiliki aktivitas antibakteri sangat kuat terhadap *S.aureus*, dengan zona hambat 31,85-34,41 mm.

Mengingat *eco-enzyme* memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen, maka dalam penelitian ini peneliti menggunakan cairan *eco-enzyme* dari kulit jeruk dan nanas untuk mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *E. coli*, serta mengetahui perbedaan daya hambat dari kedua *eco-enzyme* yang diujikan.

B. Rumusan Masalah

Terkait dengan latar belakang tersebut, pemanfaatan *eco-enzyme* untuk menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan penambahan *eco-enzyme* dengan bahan dari kulit jeruk dibandingkan *eco-enzyme* dengan bahan dari kulit nanas dengan konsentrasi yang berbeda diharapkan berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. coli*. Terhambatnya pertumbuhan bakteri yang diamati melalui diameter zona hambatan, menunjukkan terjadinya pengurangan jumlah bakteri tersebut. Berdasarkan masalah tersebut, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah "Apakah ada pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada media NA."

C. Tujuan Penelitian

Berikut ini adalah tujuan penelitian yang didasarkan pada rumusan masalah yang disebutkan di atas, yaitu :

1. Tujuan Umum

Diketahui *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada media NA

2. Tujuan Khusus

- a. Diketahui perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

- b. Diketahui perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, 100 %
- c. Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
- d. Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
- e. Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
- f. Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

D. Ruang Lingkup

Pada penelitian ini akan dikaji mengenai pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen semu.

E. Manfaat Penelitian

Dengan mengetahui tujuan dari penelitian ini maka manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Manfaat Teoritis

- a. Dapat menjadi dasar dalam melakukan penelitian sejenis terkait pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan dengan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, dibandingkan dengan perlakuan dengan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 pada media NA.

- b. Meningkatkan pemahaman di bidang informasi mengenai teknik penelitian pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan dengan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, dibandingkan dengan perlakuan dengan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 pada media NA.
- c. Bagi Jurusan Kesehatan Lingkungan untuk pengkayaan literatur mengenai pengaruh pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada media NA.
- d. Untuk menambah pengetahuan peneliti dalam penggunaan *eco-enzyme* kulit jeruk, dibandingkan dengan perlakuan dengan *eco-enzyme* kulit nanas pada media NA dalam menekan pertumbuhan bakteri *E. coli*.
- e. Sebagai bahan tambahan bagi peneliti lain yang ingin melakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.
- f. Memberikan kesempatan lebih kepada peneliti dalam mempersiapkan, mengumpulkan, mengolah, dan menganalisis, serta menginformasikan data yang diperoleh.

2. Manfaat Skripsi

- a. Bagi peneliti dapat menambah pengetahuan dan pengalaman dalam penelitian mengenai pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* pada media NA
- b. Bagi warga masyarakat dapat menjadi referensi untuk membuat *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 untuk keperluan higiene sanitasi atau manfaat *eco-enzyme* lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*)

Berdasarkan Rahayu WP²², genus *Escherichia* merupakan bagian dari *Escherichiae* yang termasuk pada famili *Enterobacteriaceae* dan pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh seorang bakteriologis asal Jerman bernama Theodor Escherich.

Selanjutnya juga dijelaskan Rahayu WP²², bahwa bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri koliform yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri enterik atau bakteri yang dapat hidup dan bertahan di dalam saluran pencernaan. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang bersifat gram-negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan merupakan flora alami pada usus mamalia. Beberapa strain bakteri ini memberikan manfaat bagi manusia, misalnya mencegah kolonisasi bakteri patogen pada pencernaan manusia. Namun, ada beberapa kelompok lain yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia, yang dikenal sebagai *E. coli* patogen. *Escherichia coli* patogen pertama kali teridentifikasi pada tahun 1935 sebagai penyebab diare²².

1. Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Dalam penelitian Widhah²³, dijelaskan tentang morfologi *Escherichia coli* yaitu merupakan salah satu bakteri koliform yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *E. coli* berbentuk batang berdiameter 0,5 μm dan panjang sekitar 2 μm . Memiliki volume sel berkisar 0,6-0,7 μm^3 . Struktur sel *E. coli* dikelilingi oleh membran sel, terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleoprotein. Membran sel *E. coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *E. coli* menjulur dari permukaan sel. *E. coli* mempunyai tiga struktur antigen utama permukaan yang digunakan untuk membedakan serotipe golongan *E. coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagela. Dinding sel *E. coli* berupa lipopolisakarida yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta diklasifikasikan sebagai antigen O. Kapsul *E. coli* berupa polisakarida yang dapat melindungi membran luar dari fagositik dan sistem komplemen, diklasifikasikan sebagai antigen K. Flagela *E. coli* terdiri dari protein yang

bersifat antigenik dan dikenal sebagai antigen H. Faktor virulensi *E. coli* juga disebabkan oleh enterotoksin, hemolisin, dan molekul pengikat besi aerobaktin dan entrobaktin²³.

Bakteri *E. coli* termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob. Bakteri ini dapat membentuk koloni pada saluran pencernaan manusia maupun hewan dalam beberapa jam setelah kelahiran. Faktor pembentukan koloni ini adalah mikroflora dalam tubuh masih sedikit, rendahnya kekebalan tubuh, faktor stres, pakan, dan infeksi agen patogen lain. Disebutkan oleh Widhah²³, bahwa kebanyakan *Escherichia coli* memiliki virulensi yang rendah dan bersifat oportunistis. Dalam penelitian Azmin²⁴, disebutkan bahwa bakteri *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata.

Identifikasi bakteri tidak dapat dilakukan dengan mengetahui sifat morfologinya saja, namun harus mengetahui sifat fisiologisnya juga. Menurut Widhah²³, sifat fisiologis bakteri sangat penting diketahui apabila melakukan identifikasi bakteri karena sifat morfologi dapat tampak serupa sehingga perlunya dilakukan uji biokimia untuk mengetahui sifat dan spesies bakteri.

2. Karakteristik Bakteri *E. coli*

Berdasarkan Rahayu²², karakteristik dari bakteri *E. coli* adalah :

- a. Merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang.
- b. Ukuran berkisar antara 1.0-1.5 μm x 2.0-6.0 μm .
- c. Tidak motil atau motil dengan flagella.
- d. Dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen.
- e. Bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang miskin nutrisi.
- f. Memiliki kemampuannya untuk memproduksi indol.
- g. Kurang mampu memfermentasi sitrat, bersifat negatif pada analisis urease.

Selanjutnya juga ditegas oleh Suryani Y dan Taupiqurrahman O²⁵, bahwa *E. Coli* merupakan Bakteri Gram Negatif Anaerobik Fakultatif yang

merupakan mikroba prokariotik uniselular, berkembang biak secara asexual dengan pembelahan sel.

Penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri *E. coli* pada bahan pangan berbasis daging di kota Kupang, diperoleh informasi bahwa karakterisasi makroskopis pada empat lokasi memiliki bentuk, elevansi, dan tepian yang sama. Selanjutnya karakteristik mikroskopis dilakukan melalui metode pewarnaan gram dengan hasil semua isolat bakteri merupakan bakteri gram negatif yang memiliki bentuk sel coccus, dan susunan sel tunggal²⁶.

3. Klasifikasi Bakteri *E. coli*

Klasifikasi bakteri *E. coli* berdasarkan Widhah²³, mulai dari Domain sampai pada Tingkat spesies adalah :

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Gammaproteobacteria*

Order : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

4. Habitat Bakteri *E. coli*

Dalam buku yang ditulis oleh Rahayu WP²², dijelaskan bahwa bakteri *E. coli* merupakan spesies dengan habitat alami dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan. *E. coli* dapat hidup pada rentang suhu 20-40°C dan suhu optimumnya pada 37°C. Penyakit yang ditimbulkan oleh *E. coli* disebabkan karena kemampuannya untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungan yang berbeda. Ada beberapa jenis kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi *E. coli* untuk dapat tetap bertahan, misalnya lingkungan asam (pH rendah) seperti pada saluran pencernaan manusia, perubahan suhu, serta tekanan osmotik. Kemampuan *E. coli* untuk bertahan hidup selama pendinginan dan pembekuan telah terbukti menjadikan *E. coli* toleran terhadap kondisi kering.

Selanjutnya Widhah²³, menjelaskan bahwa *E. coli* dapat hidup dan bertahan pada tingkat keasaman yang tinggi di dalam tubuh manusia. *E. coli* juga dapat hidup dan bertahan di luar tubuh manusia yang penyebarannya melalui feses. Kedua habitat hidup *E. coli* ini cukup berlawanan. Saluran pencernaan manusia merupakan habitat yang relatif stabil, hangat, bersifat anaerob, dan kaya nutrisi. Sementara itu, di luar saluran pencernaan, kondisi lingkungan dapat sangat beragam, jauh lebih dingin, aerobik, serta kandungan nutrisi yang lebih sedikit.

Dalam bukunya Rahayu WP²², dijelaskan lagi bahwa bakteri *E. coli* umum hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. Menurut Herlina⁷, *E. coli* adalah salah satu bakteri yang termasuk golongan coliform dan hidup normal di dalam kotoran manusia maupun hewan, oleh karena itu disebut juga koliform fekal. *E. coli* umum ditemukan dalam air, sehingga keberadaannya dalam air dapat dianggap sebagai petunjuk terjadinya pencemaran kotoran dalam arti luas, baik dari kotoran hewan maupun manusia.

Secara fisiologi, *E. coli* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang sulit. *E. coli* tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau di tanah. Pada kondisi tersebut *E. coli* terpapar lingkungan abiotik dan biotik. Penyakit yang ditimbulkan oleh *E. coli* disebabkan karena kemampuannya untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungan yang berbeda. Ada beberapa jenis kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi *E. coli* untuk dapat tetap bertahan, misalnya lingkungan asam (pH rendah) seperti pada saluran pencernaan manusia, perubahan suhu, serta tekanan osmotik. Kemampuan *E. coli* untuk bertahan hidup selama pendinginan dan pembekuan telah terbukti menjadikan *E. coli* toleran terhadap kondisi kering²².

E. coli dapat hidup dan bertahan pada tingkat keasaman yang tinggi di dalam tubuh manusia. *E. coli* juga dapat hidup dan bertahan di luar tubuh manusia yang penyebarannya melalui feses. Kedua habitat hidup *E. coli* ini cukup berlawanan. Saluran pencernaan manusia merupakan habitat yang relatif stabil, hangat, bersifat anaerob, dan kaya nutrisi. Sementara itu, di luar saluran

pencernaan, kondisi lingkungan dapat sangat beragam, jauh lebih dingin, aerobik, serta kandungan nutrisi yang lebih sedikit^{22, 27, 28}.

E. coli memiliki waktu generasi sekitar 30 sampai 87 menit bergantung pada suhu. Waktu generasi merupakan waktu yang dibutuhkan bagi sel *E. coli* untuk membelah diri menjadi dua kali lipat. Suhu optimum bagi pertumbuhan *e. coli* adalah 37°C dengan waktu generasi tersingkat, yaitu selama 30 menit^{22, 27, 28}.

E. coli juga merupakan bakteri indikator kualitas air minum karena keberadaannya di dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme enterik patogen lainnya. Bakteri *E. coli* yang ada di dalam air umumnya *E. coli* non-patogen tetapi terkadang ditemukan pula strain patogen seperti enterotoksigenik dan *E. coli* yang memproduksi shiga-toxin (Enterohemoragik)^{22, 27, 28}.

5. Patogenitas Bakteri *E. coli*

Bakteri *E. coli* memiliki beberapa antigen yang berperan dalam patogenesis, seperti antigen somatik, flagela, kapsul, fibrin, enterotoksin, dan verotoksin. Sebagian besar *E. coli* tidak berbahaya, tetapi seperti *E. coli* tipe O157:H7, dapat menyebabkan keracunan makanan yang parah pada manusia, yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang disebut verotoksin. Toksin bekerja dengan menghilangkan satu basa adenin dari unit 28S rRNA untuk menghentikan sintesis protein. Pada umumnya, bakteri ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia. Berdasarkan mekanisme infeksi *E. coli* dalam menimbulkan penyakit, maka Nataro, *et al.* 2004 dalam Widhah²³, membagi menjadi 5 kelompok yaitu : Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), Enteroaggregative *E. coli* (EaggEC) dan Enteroinvasive *E. coli* (EIEC).

Dalam buku Bakteriologi Dasar yang ditulis Chylen Setiyo Rini, dan Jamilatur Rohmah²⁹, disebutkan toksigenitas ialah faktor penentu patogenesis bakteri. *E.coli* dapat menghasilkan toksin. Toksin yang dihasilkan bakteri dapat digolongkan menjadi dua kelompok utama yaitu : eksotoksin dan endotoksin.

Endotoksin adalah komponen lipopolisakarida (LPS) dinding sel bakteri Gram negatif (kokus maupun basil) yang tersimpan dan tidak secara aktif dikeluarkan oleh bakteri. Bakteri Gram positif tidak menghasilkan toksin ini. Endotoksin dapat menyebabkan demam, syok dan gejala umum lainnya. Endotoksin akan dilepaskan dari tubuh bakteri jika bakteri mengalami lisis (hancur, mati)²⁹.

Eksotoksin adalah toksin yang dihasilkan dan dikeluarkan dari badan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Eksotoksin dapat menyebabkan penyakit dibagian tubuh tertentu setelah menyebar atau terbawa melalui jalur sistemik. Eksotoksin lebih toksik dibandingkan dengan endotoksin²⁹.

Secara umum eksotoksin bakteri dapat dibagi menjadi²⁹:

- a. Neurotoksin yaitu toksin yang berpengaruh terhadap saraf. Contohnya : toksin tetanus (dihasilkan oleh *Clostridium tetani*), toksin difteria (dihasilkan oleh *Corynebacterium diphtheriae*) dan toksin botulinum (yang dihasilkan oleh *Clostridium botulinum*).
- b. Enterotoksin yaitu toksin yang berefek racun terhadap mukosa usus dan dapat menyebabkan gangguan gastrointestinal. Contohnya toksin yang dihasilkan oleh *Eschericia coli*, *Vibrio cholera* dan *Bacillus cereus*.

Pada umumnya, bakteri ini dapat ditemukan dalam usus besar manusia. Berdasarkan mekanisme infeksi *E. coli* dalam menimbulkan penyakit, maka ada 5 kelompok yaitu : Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), Enteroaggregative *E. coli* (EAEC) dan Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)²².

- a. *E. coli* Enteropatogenik (EPEC) khususnya pada negara berkembang menjadi penyebab penting diare pada bayi. EPEC sebelumnya dikaitkan dengan wabah diare pada anak-anak di negara maju. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil.
- b. *E. coli* Enteropatogenik (ETEC) penyebab yang sering dari “diare wisatawan” dan penyebab diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil.

- c. *E. coli* Eschericia Enterohemoragik (EHEK) menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel Vero, suatu ginjal dari monyet hijau Afrika.
- d. *E. coli* Enteroaggregative (EAEC) penyebab diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang.
- e. *E. coli* Enteroinvasive (EIEC) menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Galur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus.

Berdasarkan Rahayu WP²², dalam bukunya menjelaskan bahwa *E. coli* yang merupakan bakteri patogen penyebab diare atau disebut juga sebagai Diarrheagenic *E. coli* (DEC) terdiri dari enam jenis, yaitu :

- a. Enterotoxigenic coli (ETEC).
- b. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC).
- c. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC).
- d. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC).
- e. Enteroaggregative *E. coli* (EAEC), dan
- f. Diffusely adherent *E. coli* (DAEC).

Ada empat jenis *E. coli* (EPEC, ETEC, EHEC, dan EIEC) dilaporkan sebagai bakteri penyebab penyakit yang berasosiasi dengan pangan (foodborne illness). Beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa EAEC merupakan bakteri yang mengontaminasi pangan dan menyebabkan diare²².

Menurut Herlina⁷, *E. coli* hidup dalam jumlah besar di dalam usus manusia, yaitu untuk membantu sistem pencernaan manusia dan melindungi dari bakteri patogen. Namun pada strain baru dari *E. coli* merupakan patogen berbahaya yang menyebabkan penyakit diare.

Bakteri *E. coli* yang berlebih dapat menyebabkan penyakit, yang dimana bakteri ini menyebar ke sistem/organ lain dalam tubuh, dapat

menyebabkan infeksi. Tanda-tanda klinis tersebut berdasarkan Widhah²³, yang disebabkan oleh strain *E. coli* patogen biasanya bertanggung jawab atas tiga jenis penyakit infeksi pada manusia seperti, infeksi saluran cerna penyebab diare, infeksi saluran kemih, dan meningitis neonatus.

Herlina⁷, juga menjelaskan bahwa infeksi saluran kemih yang disebabkan oleh *E. coli* ini merupakan penyebab yang paling umum dari infeksi saluran kemih dan merupakan penyebab infeksi saluran kemih pertama pada kira-kira 90% wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering kencing, disuria, hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas. Tak satupun dari gejala atau tanda-tanda ini bersifat khusus untuk bakteri *E. coli*⁷.

Selanjutnya berdasarkan Rahayu WP²², menjelaskan gejala klinis yang ditimbulkan oleh strain *E. coli* patogen umumnya bertanggung jawab atas tiga tipe infeksi pada manusia, yaitu infeksi pada saluran pencernaan yang mengakibatkan diare, infeksi saluran kemih, dan meningitis neonatal. *E. coli* patogen merupakan salah satu bakteri yang berbahaya. Apabila masuk ke dalam saluran pencernaan melalui makanan yang dikonsumsi dapat menyebabkan penyakit atau sampai kematian bila tidak tertangani bahkan untuk strain tertentu pada dosis yang sangat rendah²².

E. coli adalah mikroflora usus normal, tetapi dalam kondisi tertentu dapat menjadi patogen. *E. coli* sebagai bakteri patogen, banyak ditemukan dalam infeksi saluran kemih, infeksi gastrointestinal, dan infeksi luka pasca operasi. Secara fisiologis, *E. coli* memiliki kemampuan bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang sulit. Berdasarkan Widhah²³, melaporkan bahwa *E. coli* tumbuh subur di air tawar, air asin, atau tanah, dimana dalam kondisi ini, *E. coli* terpapar baik pada lingkungan abiotik maupun biotik. Selanjutnya Rochyani³⁰, menyatakan *E. coli* menyebabkan berbagai penyebab penyakit pada manusia. Beberapa penyakit yang di sebabkannya adalah infeksi saluran kemih (ISK), sepsis neonatal, dan meningitis neonatal. Sindrom uremik hemolitik (HUS) merupakan komplikasi penyakit yang parah Infeksi usus oleh strain *E. coli* tertentu.

E. coli memiliki beberapa antigen yang berperan dalam patogenesis, seperti antigen somatik, flagela, kapsul, fibrin, enterotoksin, dan verotoksin. Sebagian besar *E. coli* tidak berbahaya, tetapi seperti *E. coli* tipe O157:H7, dapat menyebabkan keracunan makanan yang parah pada manusia, yaitu diare berdarah karena eksotoksin yang disebut verotoksin. Berdasarkan Widhah²³, toksin bekerja dengan menghilangkan satu basa adenin dari unit 28S rRNA untuk menghentikan sintesis protein.

B. Pengertian *Eco-enzyme* (EE)

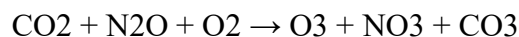
Eco-enzyme merupakan produk yang dibuat dari bahan alami seperti buah-buahan, sayuran, dan gula yang difermentasi selama beberapa minggu. Fermentasi ini melibatkan mikroorganisme yang ada secara alami di lingkungan kita, seperti ragi dan bakteri asam laktat. Hasil fermentasi ini menghasilkan larutan yang kaya akan enzim dan probiotik yang bermanfaat. Enzim adalah molekul protein yang bertindak sebagai biokatalisator yang membantu mempercepat reaksi kimia dalam tubuh dan juga berperan dalam berbagai proses biologis. Beberapa enzim yang terdapat dalam *eco-enzyme*, seperti amilase, protease, lipase, dan selulase, dapat membantu pencernaan dan pemecahan berbagai jenis bahan organik. Selain enzim tersebut, *eco-enzyme* juga mengandung probiotik, berupa mikroorganisme hidup yang menguntungkan bagi kesehatan kita. Berdasarkan Hemalatha dan Visantini³¹, probiotik tersebut dapat membantu menjaga keseimbangan mikrobiota yang ada dalam saluran pencernaan dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh.

Dalam laporan penelitian Widyasari dan Wiratama³², menyatakan bahwa *eco-enzyme* ditemukan oleh Dr. Rosukon Poompanvong. Beliau adalah peneliti dan pemerhati lingkungan dari Thailand, juga seorang pendiri Asosiasi Pertanian Organik Thailand (Organic Agriculture Association of Thailand) dan mendapat penghargaan dari FAO Regional Thailand pada tahun 2003. Prasetyo³³, menambahkan bahwa Dr. Rosukon Poompanvong melakukan penelitian tentang *eco-enzyme* selama 30 tahun. Gagasan proyek ini adalah untuk mengolah enzim dari sampah organik yang biasanya kita buang ke dalam tong sampah.

Eco-enzyme adalah cairan multifungsi yang dihasilkan dari proses fermentasi 3 bulan dengan bahan sederhana, gula merah/tetes tebu, limbah atau sampah organik, dan air dengan menggunakan komposisi 1:3:10. Berdasarkan Rochyani³⁰, selama proses fermentasi tersebut, *eco-enzyme* akan menghasilkan gas ozon dan oksigen yang setara dengan yang dihasilkan oleh 10 pohon. Gas ozon, O₃ dapat mengurangi karbon dioksida di atmosfer dan logam berat di awan yang menahan panas, sehingga mengurangi pemanasan global. Disamping itu berdasarkan Zultaqawa³⁴, *eco-enzyme* juga dapat dimanfaatkan untuk membersihkan sungai yang tercemar, antiseptik, menyuburkan tanah, dan pengganti produk kimia rumah tangga harian.

C. Manfaat *Eco-enzyme*

Rochyani³⁰, menjelaskan bahwa selama proses fermentasi, berlangsung reaksi :



Ditambahkannya bahwa setelah proses fermentasi sempurna, barulah *eco-enzyme* (likuid berwarna coklat gelap) terbentuk. Hasil akhir ini juga menghasilkan residu tersuspensi di bagian bawah yang merupakan sisa sayur dan buah. Residu dapat dimanfaatkan sebagai pupuk organik. Sedangkan likuid *eco-enzyme* itu sendiri, dapat dimanfaatkan sebagai pembersih lantai, sangat efektif untuk membersihkan lantai rumah, disinfektan, dapat digunakan sebagai antibakteri di bak mandi, insektisida digunakan untuk membasmi serangga (dengan mencampurkan ezim dengan air dan digunakan dalam bentuk spray), dan cairan pembersih di selokan, terutama selokan kecil sebagai saluran pembuangan air kotor³⁰.

Lebih lanjut Rochyani³⁰, menjelaskan bahwa pembuatan enzim ini juga memberikan dampak yang luas bagi lingkungan secara global maupun ditinjau dari segi ekonomi. Ditinjau manfaat bagi lingkungan, selama proses fermentasi enzim berlangsung, dihasilkan gas O₃ yang merupakan gas yang dikenal dengan sebutan ozon sebagaimana diketahui jika satu kandungan dalam *eco-enzyme* adalah Asam Asetat (H₃COOH), yang dapat membunuh kuman, virus dan bakteri. Sedangkan kandungan enzim itu sendiri adalah Lipase, Tripsin, Amilase dan Mampu

membunuh/mencegah bakteri Patogen. Selain itu juga dihasilkan NO_3 (Nitrat) dan CO_3 (Karbon trioksida) yang dibutuhkan oleh tanah sebagai nutrient. Dari segi ekonomi, pembuatan enzim dapat mengurangi konsumsi untuk membeli cairan pembersih lantai ataupun pembasmi serangga³⁰.

Dari beberapa peneliti, dapat disimpulkan manfaat dari *eco-enzyme* sebagai berikut:

1. Sebagai Cairan Anti Bakteri

Menurut Rahayu M. R²¹, menyatakan bahwa *eco-enzyme* dari bahan-bahan baku kulit rambutan, jagung tongkol, dan kulit labu siam yang dipadukan dengan kayu cendana kamboja mempunyai potensi yang sama diformulasikan untuk menjadi bahan aktif dalam pembuatan disinfektan alami.

2. Pengolahan Limbah

- a. Widyastuti³⁵, menyatakan bahwa untuk mengolah limbah cair tahu sebelum dibuang ke lingkungan. Dari hasil penelitian ini diketahui perlakuan yang paling efektif adalah penambahan *eco-enzyme* 10 % dengan waktu tinggal 20 hari. Penurunan BOD, COD dan TSS tertinggi masing-masing sebesar 79,75 %, 41,38 % dan 77,45 %.
- b. Dalam penelitian Widyasari dan Wiratama³², diketahui untuk pengolahan limbah industry yang mengandung logam berat, dimana *eco-enzyme* dapat bekerja mengurai senyawa polutan berbahaya menjadi senyawa tidak berbahaya, mengandung enzim hidrolitik sehingga dapat digunakan sebagai agen bioremediasi yang mampu meningkatkan kesuburan tanah. Inovasi produk *eco-enzyme* yang ramah lingkungan diharapkan mampu memberikan kontribusi dalam mengatasi pencemaran dalam tanah sehingga mampu menjaga tingkat kesuburan tanah. Ditambahkan pula oleh Hemalatha dan Visantini³¹, bahwa *eco-enzyme* adalah salah satu produk yang dihasilkan dari fermentasi limbah buah jeruk dan keefektifan enzim dalam mengolah limbah berbasis logam.

c. Penggunaan *eco-enzyme* dalam IPAL

Penggunaan *eco-enzyme* dalam IPAL dapat membantu meningkatkan efisiensi pengolahan limbah, mengurangi pencemaran lingkungan, dan memperpanjang masa pakai peralatan IPAL. Dijelaskan oleh Widyasari³⁶, bahwa penggunaan *eco-enzyme* merupakan salah satu pendekatan yang ramah lingkungan dan berkelanjutan dalam pengelolaan air limbah, membantu mencapai pengolahan limbah yang lebih efisien dan melindungi lingkungan air.

d. Biokatalis pengurai minyak dan lemak pada air limbah domestic

Laporan penelitian Wikaningrum dan Pratamadina 2022 dalam Zultaqawa³⁴, dijelaskan bahwa *eco-enzyme* yang terbuat dari sampah jeruk berpotensi digunakan untuk mereduksi konsentrasi minyak dan lemak pada air limbah domestik. Sampel yang digunakan adalah artifisial yang dibuat dari sampel air limbah domestik yang sengaja ditambahkan minyak dan lemak sehingga konsentrasi awal sebesar 19,82 mg/L. Pada sampel yang telah ditambahkan 5 % *eco-enzyme*, konsentrasi minyak dan lemak berhasil turun menjadi 13,84 mg/L setelah 9 hari pengamatan, dibandingkan dengan yang tidak ditambah *eco-enzyme* menjadi sebesar 15,93 mg/L³⁴.

e. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi kandungan LAS detergen dan memperbaiki kualitas perairan adalah dengan penggunaan ekoenzim. Juga disebutkan bahwa Penggunaan ekoenzim dengan berbagai konsentrasi berpengaruh terhadap penurunan kadar LAS detergen dan kualitas air³⁷.

3. Pupuk Alami dan Biopestisida

Penelitian Arifin, *et al.* 2009 dalam Zultaqawa³⁴, menjelaskan bahwa *eco-enzyme* merupakan produk fermentasi yang memiliki aktivitas anti mikroba yang tinggi sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Oleh karena itu, dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida. Hasanah³⁸, menambahkan bahwa *eco-enzyme* adalah cairan hasil fermentasi dari limbah organik buah-buahan, sayuran, dan sampah organik lainnya yang sangat bermanfaat bagi pertanian, sebagai pupuk organik cair (LOF).

Dengan *eco-enzyme* maka dapat meningkatkan efisiensi penyerapan nutrisi oleh tanaman, mengurangi potensi pencemaran lingkungan dan meningkatkan kualitas tanah³⁹. Perbandingan produksi padi dengan tanpa *eco-enzyme* menunjukkan peningkatan yang signifikan. Islami S³⁹, menyimpulkan bahwa *eco-enzyme* adalah pupuk organik inovatif yang meningkatkan produktifitas pertanian, kualitas tanah, dan mengurangi ketergantungan pada bahan kimia sintetis secara berkelanjutan.

Penelitian Wandira⁴⁰, melaporkan bahwa pemberian *eco enzyme* berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah anakan, jumlah daun, panjang daun, lebar daun dan umur berbunga pada tanaman padi.

4. Kebutuhan Rumah Tangga

Dalam buku berjudul *eco-enzyme* yang dikeluarkan oleh Dinas Pertanian Cilacap, dijelaskan bahwa masyarakat umumnya belum mengenal atau baru mendengar istilah *eco-enzyme*. Beberapa manfaat penggunaan EE dalam kebutuhan rumah tangga dengan takaran pemakaian antara larutan EE dengan air (ml)⁴¹, sebagai berikut.

- a. Mencuci piring, peralatan dapur 1:10-50
- b. Penyegar udara 1:200
- c. Menyiram tanaman 1:500
- d. Disinfektan
- e. Mengepel lantai 1:1000
- f. Mencuci baju
- g. Sabun cair berbasis *eco enzyme*

Eco enzyme dapat mengurangi ketergantungan pada bahan kimia sintetis sebagai desinfektan, dan pembersih tangan⁴².

Untuk sabun cair berbasis *eco-enzyme* ini menurut Sugiyanto⁴³, memiliki beberapa keunggulan yang menjadikannya efektif sebagai sabun atau pembersih. Berikut adalah beberapa alasan mengapa *eco-enzyme* sangat efektif dalam perannya sebagai sabun:

- 1) Kandungan enzim alami *eco-enzyme* mengandung berbagai enzim alami yang dihasilkan selama proses fermentasi. Enzim ini mampu

menguraikan kotoran, noda, dan lemak yang menempel pada permukaan, sehingga membuatnya sangat efektif dalam membersihkan berbagai jenis kotoran, termasuk sisa makanan, minyak, dan noda lainnya.

- 2) Asam sitrat sebagai agen pembersih jeruk lemon, sebagai bahan utama, kaya akan asam sitrat yang berfungsi sebagai agen pembersih alami. Asam sitrat membantu melarutkan kerak dan kotoran, serta memiliki sifat antibakteri yang membantu membunuh kuman dan bakteri, menjadikannya aman dan efektif untuk digunakan sebagai sabun cair cuci tangan dan pembersih lainnya.
- 3) Sifat antibakteri dan antijamur kandungan alami dalam jeruk lemon memiliki sifat antibakteri dan antijamur, yang membantu mencegah pertumbuhan mikroorganisme berbahaya pada permukaan yang dibersihkan. Ini menjadikan *eco-enzyme* bukan hanya pembersih, tetapi juga desinfektan alami yang aman bagi kesehatan.
- 4) Ramah lingkungan *eco-enzyme* adalah alternatif ramah lingkungan bagi pembersih kimia sintetis. Proses pembuatannya menggunakan bahan-bahan alami yang dapat terurai secara hayati, sehingga tidak mencemari lingkungan. Penggunaan *eco-enzyme* membantu mengurangi jejak karbon dan mendukung praktik berkelanjutan.
- 5) Aroma segar yang menyenangkan *eco-enzyme* yang terbuat dari jeruk lemon memberikan aroma segar yang alami. Aroma ini dapat membantu menghilangkan bau tidak sedap di ruangan dan memberikan sensasi kesegaran setelah digunakan. Hal ini membuat penggunaan *eco-enzyme* lebih menyenangkan dibandingkan dengan pembersih kimia yang seringkali memiliki bau menyengat.
- 6) Mencegah timbulnya alergi dan iritasi karena terbuat dari bahan-bahan alami, *eco-enzyme* cenderung lebih aman bagi kulit, terutama bagi mereka yang memiliki kulit sensitif atau alergi terhadap bahan kimia tertentu. Penggunaan *eco-enzyme* dapat mengurangi risiko

iritasi kulit yang sering terjadi akibat penggunaan sabun atau pembersih berbahan kimia.

Selanjutnya mengenai manfaat *eco-enzyme* ini menurut Islami⁴², menyimpulkan bahwa *eco-enzyme* dapat meningkatkan produktivitas dan kualitas tanah serta mengurangi ketergantungan pada bahan kimia sintetis sebagai desinfektan, insektisida dan pembersih tangan. *Eco enzyme* juga mampu mengurangi pencemaran dalam air yang ditunjukkan dengan meningkatnya kadar O₂ terlarut yang berkontribusi terhadap O₃ ke atmosfer.

7) Manfaat lain

Dari penelitian Fatimah⁴⁴, dilaporkan bahwa *eco-enzyme* dari sampah kulit jeruk (*Citrus sp.*) efektif dalam mengatasi inflamasi yang diindikasikan dengan nilai daya antiinflamasi melampaui obat komersil Betametason. Selain itu, *eco-enzyme* kulit jeruk dapat meregulasi nilai darah terutama yang terkait dengan komponen leukosit. Dalam *eco-enzyme* kulit buah jeruk teridentifikasi beberapa senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antiinflamasi (Aloxiprin, Hydroperoxide, 1-methylpentyl, Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid, 2-Hydroxy-1,1,10-trimethyl-6,9-epidioxyde-cali dan Acetaldehyde cis-3-hexenyl pentyl acetal). Dengan demikian eko-enzim kulit jeruk sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antiinflamasi yang efektif dan terjangkau di masa datang⁴⁴.

D. Pembuatan *Eco-enzyme*

1. Cara Membuat⁴¹

Gula 1 bagian : sisa buah/sayur 3 bagian : air 10 bagian

Volume maksimal air = 60 % volume wadah

Misalkan volume wadah = 10 l

Volume maksimal air = 6 l

Sisa buah/sayur = 1,8 kg

Gula = 600 gr

Prinsip proses pembuatan *eco-enzyme* sendiri sebenarnya mirip proses pembuatan kompos, namun ditambahkan air sebagai media pertumbuhan sehingga produk akhir yang diperoleh berupa cairan yang lebih disukai karena lebih mudah digunakan. *Eco enzyme* dibuat dari sampah organik, gula/molase, dan air dengan perbandingan 3:1:10. Bahan-bahan tersebut setelah dicampur selanjutnya difermentasikan selama kurang lebih 3. Botol-botol bekas air mineral maupun bekas produk lain yang sudah tidak digunakan dapat dimanfaatkan kembali sebagai tangki fermentasi *eco-enzyme*⁴⁵. Pakpahan⁴⁶, menjelaskan pembuatan *eco-enzyme* dengan rumus 1:3:10 yaitu 1 bagian gula : 3 bagian sisa buah atau sayuran : 10 bagian air difermentasi selama 3 bulan.

Menurut Jannah⁴⁷, sisa sayur dan buah yang digunakan dalam keadaan “mentah” dan tidak busuk, jika bahan yang digunakan busuk, maka besar kemungkinan *eco-enzyme* yang dipanen nantinya akan berwarna hitam dan berbelatung.

2. Rekomendasi Wadah yang Bisa Digunakan⁴¹

- a. Wadah logam tidak boleh digunakan (Mudah karatan).
- b. Wadah kaca tidak boleh digunakan (Rentan Pecah).
- c. Wadah bermulut kecil tidak disarankan (Rentan Meledak) Botol plastik dapat digunakan untuk menyimpan hasil panen *eco-enzyme*.
- d. Memiliki tutup bermulut lebar, boleh besar/kecil, berbahan plastic.

3. Rekomendasi Air yang Bisa Digunakan⁴¹

- a. Air isi ulang
- b. Air sumur
- c. Air gallon
- d. Air buangan AC
- e. Air PAM (Didiamkan selama ± 24 jam (agar kaporit mengendap dan bisa dipisahkan)
- f. Air hujan (Ditampung langsung dari langit (tidak melalui genteng/pipa) dan sebaiknya diendapkan ± 24 jam)

4. Jenis Gula yang Digunakan⁴¹

- a. Molase

- b. Gula Aren
- c. Gula Kelapa
- d. Gula Tebu
- e. Gula lontar
- f. Tidak boleh gula pasir

5. Kategori Sayur/Buah yang Bisa Digunakan⁴¹

Semua sisa buah/sayuran dapat digunakan membuat *eco-enzyme*, kecuali yang :

- a. Sudah dimasak (Direbus, digoreng, dan ditumis)
- b. Busuk/berulat/berjamur
- c. Berminyak (Seperti kelapa dan ampasnya)
- d. Kering/keras (Kayu)

6. Langkah Pembuatan⁴¹

Langkah 1 :

- a. Bersihkan wadah
- b. Ukur volume wadah
- c. Masukkan air bersih maksimal 60 % volume wadah

Langkah 2 :

Masukkan gula sesuai takaran, yaitu 10 % dari berat air

Langkah 3 :

Masukkan potongan sisa buah/sayur yaitu 30 % dari berat air, aduk rata

Langkah 4 :

- a. Tutup rapat hingga 3 bulan
- b. Beri label tanggal pembuatan

7. Lokasi Penyimpanan⁴¹

Untuk menghindari kontaminasi, tempatkan wadah larutan fermentasi di tempat yang:

- a. Lingkungan bersih jauh dari WC, tong sampah, dan bahan kimia
- b. Tidak terkena sinar matahari langsung
- c. Sirkulasi udara baik

8. Pengemasan *Eco-enzyme*⁴¹

Hasil panen *eco-enzyme* dapat dikemas di botol kaca atau plastik bertutup rapat, disarankan *eco-enzyme* dikemas di botol-botol kecil untuk alasan kepraktisan dan penjagaan kualitas.

9. Standar Baik *Eco-enzyme*⁴¹

Eco-enzyme yang baik memenuhi persyaratan :

- a. pH dibawah 4
- b. Aroma asam segar khas fermentasi

E. Indikator Sudah Terbentuknya *Eco-enzyme*

Eco-enzyme yang sudah siap panen harus memenuhi beberapa kriteria, yakni pH berkisar 4, warna cerah, dan aromanya segar khas fermentasi³⁸. Cairan *eco-enzyme* berwarna kecokelatan dan memiliki aroma asam yang segar dan kuat³¹. Limbah organik seperti kulit buah dan sayuran sebagai sumber karbon selama fermentasi, diproses dengan dipotong kecil-kecil agar bakteri dekomposer lebih teraktivasi selama proses fermentasi⁴⁸. Berikut indikator *eco-enzyme* ketika sudah terbentuk.

1. pH (*Power of Hydrogen*)

Konsentrasi ion hidrogen (pH) atau derajat keasaman sangat memengaruhi pertumbuhan mikrobial karena nilai pH sangat menentukan aktivitas enzim. Selanjutnya Hemalatha & Visantini³¹, menyatakan fermentasi *eco-enzyme* dapat dilihat dari pembentukan larutan yang berwarna coklat keruh, aroma seperti buah-buahan dan pH <4 (kondisi asam).

Konsentrasi ion hidrogen atau pH adalah derajat keasaman yang digunakan dalam menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki pada suatu larutan⁴⁹. Apabila kandungan asam organik di dalam cairan enzim semakin tinggi, maka nilai pH produk akan semakin rendah⁴⁸.

2. Aroma

Eco-enzyme merupakan larutan zat organik kompleks yang diproduksi dari proses fermentasi sisa sampah organik, gula, dan air. Cairan *eco-enzyme* ini berwarna coklat gelap dan memiliki aroma asam segar yang kuat³⁰. Bila

dianalisis menggunakan indra, aroma *eco-enzyme* ini akan asam karena produk *eco-enzyme* ini mengandung asam asetat, dengan proses fermentasi yang tergolong ke dalam metabolisme anaerobik³⁰.

3. Warna

Disamping pH, warna yang dihasilkan oleh *eco-enzyme* juga berkaitan dengan indikator sudah terbentuknya *eco-enzyme*. *Eco-enzyme* dapat dikatakan baik apabila *eco-enzyme* yang dihasilkan memberikan warna larutan coklat, aroma asam yang khas segar dan kadar air yang paling tinggi. Warna yang dihasilkan oleh *eco-enzyme* juga berkaitan dengan proses fermentasi. *Eco-enzyme* dapat dikatakan baik apabila ekoenzim yang dihasilkan memberikan warna larutan coklat, aroma asam yang khas segar dan kadar air yang paling tinggi. Warna yang tidak sesuai ini disebabkan kurang lamanya proses fermentasi⁵⁰.

Warna dari *eco-enzyme* tersebut sesuai dengan bahan yang di gunakan, jika bahan yang digunakan sudah sama namun mikroorganisme yang berbeda akan menyebabkan warna yang berbeda. Warna ideal dari *eco-enzyme* adalah kecoklatan⁵¹.

F. Zat yang Terkandung dalam *Eco-enzyme*

1. Asam Asetat

Menurut Jannah⁴⁷, di dalam *eco-enzyme* terkandung Asam asetat (H_3COOH) yang mampu membunuh kuman, bakteri bahkan Virus. Asam asetat umumnya akan memberikan rasa asam dan aroma asam pada cairan atau makanan. Asam asetat dihasilkan dari proses metabolisme bakteri yang secara alami terdapat dalam sisa buah dan sayur⁵². Asam organik merupakan kunci penting dalam penentuan keasaman. Artinya semakin tinggi kandungan asam organiknya, semakin rendah nilai pH. Dengan demikian, *eco-enzyme* yang memiliki nilai pH rendah dalam penelitian ini sebagai akibat dari kandungan asam organik yang tinggi seperti asam asetat atau asam sitrat⁵².

Menurut Larasati⁵², asam asetat dihasilkan dari proses metabolisme bakteri yang secara alami terdapat dalam sisa buah dan sayur. Proses

metabolisme anaerobik atau yang biasa disebut sebagai proses fermentasi merupakan suatu upaya bakteri untuk memperoleh energi dari karbohidrat dalam kondisi anaerobik (tanpa oksigen) dan dengan produk sampingan berupa alkohol atau asam asetat (tergantung dari jenis mikroorganismenya). Fungi dan beberapa jenis bakteri menghasilkan alkohol dalam proses fermentasi, sedangkan kebanyakan dari bakteri menghasilkan asam asetat⁵².

2. Enzim Biokatalisator

Cairan *eco-enzyme* yang berasal dari limbah sayuran dan buah-buahan seperti jeruk, nanas, pepaya, pisang dan buah-buahan lainnya diketahui memiliki banyak aktivitas enzim seperti lipase, tripsin, amilase, dan enzim fosfatase. Menurut Jannah⁴⁷, di dalam *eco-enzyme* terkandung Tripsin, Amilase, Lipase. Enzim-enzim tersebut memiliki sifat biokatalisator yang dapat digunakan untuk menurunkan konsentrasi zat pencemar pada air limbah⁵³.

G. Penggunaan EM-4 dalam Pembuatan *Eco-enzyme*

EM-4 adalah cairan berisi 4 macam campuran yang terdiri dari mikroba. Mikroba tersebut adalah *Lactobacillus* sp yaitu bakteri penghasil asam laktat dan bakteri fotosintetik, *streptomyces*, ragi. Mikroba ini akan bekerja secara aktif di dalam proses dekomposisi. Oleh karena itu, berdasarkan Patrisyawati⁵⁴, penggunaan EM-4 bertujuan untuk percepatan fermentasi dalam pembuatan pupuk organik.

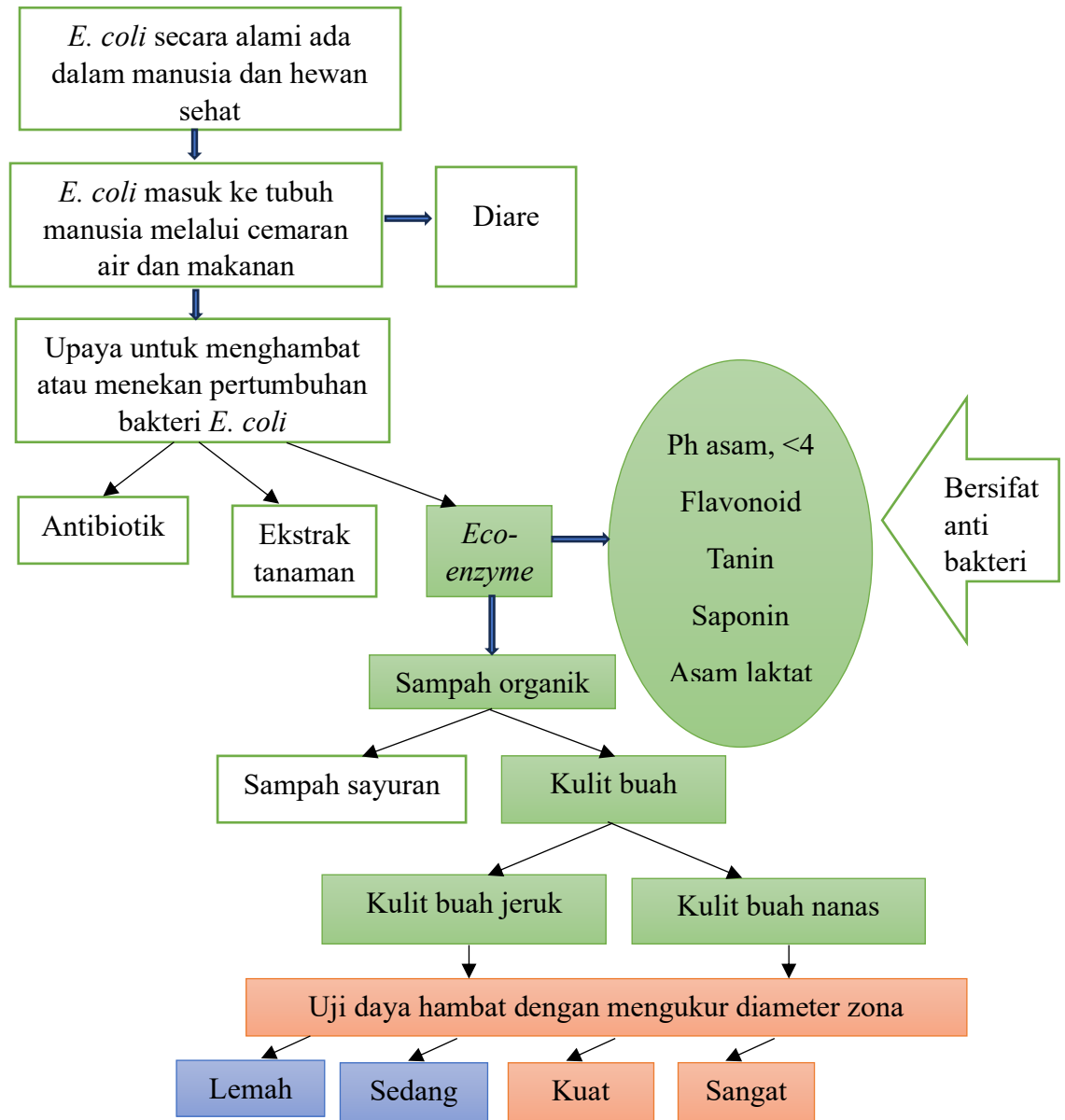
Lebih lanjut Patrisyawati⁵⁴, menjelaskan keberadaan EM-4 dalam pembuatan *eco-enzyme* ini sangatlah penting untuk mempercepat proses terbentuknya *eco-enzyme*, karena berperan sebagai pengurai bahan organik. Banyaknya EM-4 yang digunakan mempengaruhi proses fermentasinya. Pembuatan *eco-enzyme* dalam skala kecil, bila penambahan EM-4 semakin banyak akan mempercepat proses fermentasi dalam pembuatan *eco-enzyme*, artinya semakin cepat terbentuk *eco-enzyme*. Jadi, meskipun membutuhkan waktu sekitar tiga bulan dengan EM-4 waktu pembuatan *eco-enzyme* bisa lebih di percepat, dari 3 bulan menjadi 7-14 hari⁵⁴.

H. Media NA

Media yang umum digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di laboratorium seperti bakteri adalah media (NA) Nutrient agar. NA (Nutrient Agar) merupakan suatu medium yang berbentuk padat, NA dibuat dari campuran ekstrak daging dan peptone dengan menggunakan agar sebagai pematat⁵⁵. Lebih lanjut Rinihapsari⁵⁶, menyatakan media NA sering digunakan dalam pemeriksaan mikrobiologi karena media ini adalah media universal untuk pertumbuhan bakteri. NA merupakan suatu medium yang berbentuk padat, yang dibuat dari campuran ekstrak daging dan pepton dengan menggunakan agar sebagai pematat⁵⁶.

I. Kerangka Teori

Kerangka teori dalam penelitian ini disajikan pada gambar di bawah ini.



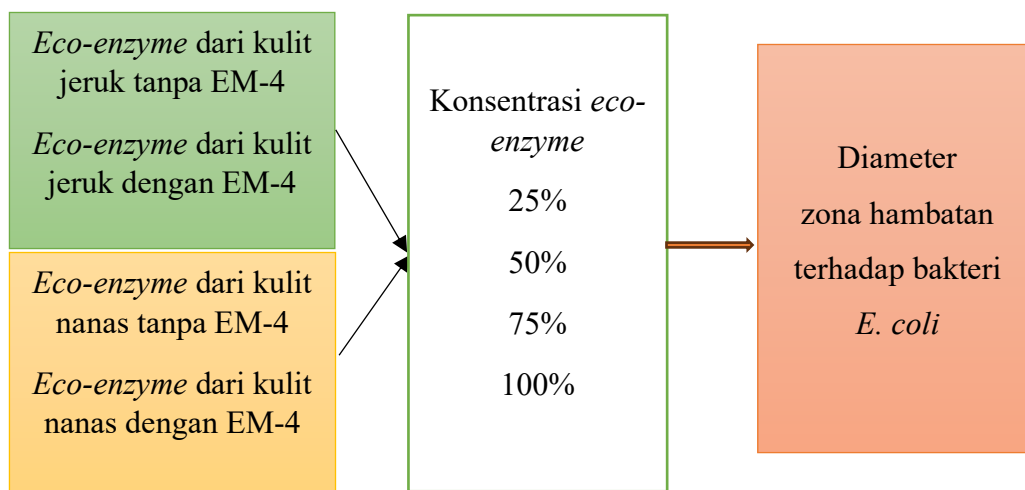
Gambar 1. Kerangka teori (Sumber : Brink 2009 dalam Ade Heryana 2022)⁵⁷

J. Kerangka Konsep

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas (independent variable), dan variabel terikat (dependent variable). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah cairan *eco-enzyme* dari limbah kulit jeruk dan cairan *eco-enzyme* dari limbah kulit nanas dengan berbagai konsentrasi mulai dari konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

75 %, dan 100 %. Sedangkan variabel terikat yaitu diameter zona hambat pertumbuhan *E. coli*.

Variabel bebas (independent variable) Variabel terikat (dependent variable)



Gambar 2. Kerangka konsep

K. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
<i>Eco-enzyme</i>	Produk dari kulit jeruk dan nanas yang difermentasi dengan penambahan EM-4 selama 14 hari	Pengukuran	Pipet ukur	Konsentrasi eco-enzyme • 25 %, • 50 %, • 75 %, • 100 % (Salsabila, 2024) ⁵⁸	Ordinal
Zona hambatan	Daerah bening yang	Pengukuran	Jangka sorong	Panjang dalam	Rasio

menunjukkan	milimeter
terhambatnya	(mm)
pertumbuhan	(Salsabila,
<i>E. coli</i> pada	2024) ⁵⁸
media agar	
NA oleh <i>eco-enzyme</i>	

L. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah

1. Ada perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
2. Ada perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, 100 %
3. Ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
4. Ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
5. Ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.
6. Ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis/Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental semu (quasi-experimental research). Penelitian ini dilakukan dengan cara terlebih dahulu menyiapkan *eco-enzyme* dari bahan kulit jeruk dan kulit nanas. *Eco-enzyme* yang dibuat di bagi dua kelompok, yaitu yang tanpa penambahan EM-4 dan yang dengan penambahan EM-4, sehingga ada 4 jenis *eco-enzyme*, yaitu *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit jeruk dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa penambahan EM-4 dan *eco-enzyme* kulit nanas dengan penambahan EM-4. *Eco-enzyme* tanpa penambahan EM-4 harus dibuat lebih awal karena waktu fermentasinya 3 bulan, sedangkan *eco-enzyme* dengan penambahan EM-4 dibulat 2 minggu sebelum pelaksanaan uji antibakteri di laboratorium karena lama fermentasinya 14 hari. Setelah keempat jenis *eco-enzyme* siap, baru diujikan daya antibakterinya menggunakan kertas cakram dengan konsentrasi *eco-enzyme* 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Setelah 24 jam diukur diameter zona hambatan yang terbentuk Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *eco-enzyme* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian dimulai dari penyusunan Proposal bulan Januari hingga laporan akhir skripsi bulan Agustus tahun 2025. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kemenkes Poltekkes Padang dan UPTD Laboratorium Kesehatan Provinsi Sumatera Barat yang beralamat di Jalan Gajah Mada, Gunung Pangilun, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang, Sumatera Barat 25173.

C. Objek Penelitian

Objek penelitian adalah bakteri *E. coli* dan *eco-enzyme* kulit jeruk serta *eco-enzyme* kulit nanas. Sampel bakteri *E. coli* diperoleh dari UPTD Laboratorium

Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. Sampel *eco-enzyme* peneliti buat sendiri sesuai dengan prosedur pembuatannya.

D. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data

1. Jenis Pengumpulan Data

a. Data primer

Data dalam penelitian ini terdiri atas data primer. Data primer diperoleh dari hasil eksperimen berupa pH *eco-enzyme* dan diameter zona hambatan dengan satuan mm (milimeter). Zona hambatan menunjukkan bakteri *E. coli* yang terhambat pertumbuhan oleh *eco-enzyme*. Data pH digunakan untuk memastikan bahwa *eco-enzyme* yang terbentuk sudah memenuhi standar yang baik yaitu pH di bawah 4.

b. Data sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh peneliti dari sumber yang sudah ada, bukan secara langsung dari objek penelitian seperti data primer. Dalam penelitian ini data sekunder di dapatkan dari buku, jurnal, dan laporan terkait yang mendukung penelitian ini

2. Teknik Pengumpulan Data

Pengukuran pH *eco-enzyme* menggunakan pH meter dan diameter zona hambatan diukur menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambatan diukur setelah 24 jam kertas cakram yang direndam dengan *eco-enzyme* sesuai dengan konsentrasi perlakuan di tempatkan pada media NA yang sudah diinokulasi dengan suspensi bakteri *E. coli*. Ada 4 macam *eco-enzyme* yang digunakan ada *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit jeruk dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa penambahan EM-4, dan *eco-enzyme* kulit nanas dengan penambahan EM-4. Sedangkan konsentrasi *eco-enzyme* yang digunakan adalah konsentrasi 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan kertas cakram dengan diameter 6 mm yang direndam dalam cairan *eco-enzyme* yang digunakan selama 1 menit, kemudian ditempatkan pada media NA yang sudah diinokuilasi dengan suspensi bakteri *E. coli* .Setelah 24 jam, barulah diameter zona hambatan diukur untuk

melihat daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* oleh *eco-enzyme* yang digunakan.

E. Instrumen Penelitian.

Instrumen penelitian untuk menguji daya hambat bakteri, atau uji aktivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer dengan cakram (disk diffusion). Media agar NA diinokulasi dengan suspensi bakteri *E. coli*. Kemudian, cakram kertas yang telah direndam dengan senyawa uji (*eco-enzyme*) ditempatkan pada permukaan agar.

1. Kertas Cakram

Kertas cakram dibuat menggunakan pelobang kertas. Ukuran diameter kertas cakram adalah 6 mm

2. Jangka Sorong

Digunakan untuk mengukur diameter zona hambat (daerah jernih di sekitar cakram)

3. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

Alat dan Bahan Tambahan:

- a. Tabung reaksi, sebagai wadah untuk membuat suspensi bakteri *E. coli*
- b. Cawan petri, sebagai wadah media NA yang akan digunakan..
- c. Inkubator, sebagai tempat untuk menginkubasi bakteri *E. coli*
- d. Lampu Bunsen/pemanas, sebagai alat untuk mensterilkan alat.
- e. Mikropipet, sebagai alat untuk mengambil suspensi bakteri *E. coli* dalam satuan mikroliter.
- f. Autoklaf, sebagai alat sterilisasi alat dan bahan..
- g. Suspensi bakteri, yaitu cairan yang mengandung bakteri *E. coli*

F. Prosedur Penelitian

1. *Eco-enzyme*

a. Pembuatan *eco-enzyme*⁵⁴.

Formulasi *eco-enzyme* yang dibuat menggunakan bahan molase, kulit buah, dan air dengan perbandingan 1 : 3 : 10

- 1) Dari kulit jeruk (2 botol aqua), masing – masingnya adalah
 - a) Gula aren 30 gram
 - b) Kulit jeruk sebanyak 90 gram
 - c) Air 300 ml
 - d) EM-4 50 ml
- 2) Dari kulit nanas (2 botol aqua), masing-masing adalah
 - a) Gula aren 30 gram
 - b) Kulit nanas sebanyak 90 gram
 - c) Air 300 ml
 - d) EM-4 50 ml

Perbandingan antara air, kulit buah, dan gula merah adalah 10:3:1.

Alat yang digunakan adalah :

- 1) Botol ukuran minimal 600 ml (botol aqua bekas, 4 buah)
- 2) Batang pengaduk

Cara pembuatan *eco-enzyme* :

- 1) Memilah kulit jeruk yang masih segar
- 2) Mengukur bahan yang digunakan sesuai dengan perbandingan yang telah ditentukan.
- 3) Memasukan air ke dalam 4 botol berbeda, masing-masing sebanyak 300 ml.
- 4) Memasukan gula aren ke dalam 4 botol berbeda, masing-masing sebanyak 30 gr aduk sampai larut.
- 5) Masukkan EM-4 pada masing-masing botol sebanyak 50 ml. *Eco-enzyme* yang dibuat dengan lama fermentasi 3 bulan tidak ditambahkan dengan EM-4.

- 6) Masukkan kulit jeruk yang dipotong kecil-kecil ke dalam botol masing-masing 90 gr (2 botol) dan kulit nanas yang dipotong kecil-kecil ke dalam botol masing-masing 90 gr (2 botol), lalu aduk merata dan tutup botol dengan rapat.
- 7) Botol diletakkan di tempat yang tidak terkena sinar matahari dan terhindar dari tempat berbau tajam atau kotor
- 8) *Eco-enzyme* terbentuk dan siap digunakan setelah 14 hari.

Dalam pembuatan *eco-enzyme* ini dilakukan penambahan EM-4 untuk mempercepat proses fermentasi. Berdasarkan Patrisyawati⁵⁴, jumlah EM-4 yang digunakan mempengaruhi proses fermentasinya, dikarenakan pada pembuatan *eco-enzyme* yang telah dilakukan ini dalam skala kecil, maka dengan adanya penambahan EM-4 yang semakin banyak akan mempercepat proses fermentasi dalam pembuatan *eco-enzyme* ini⁵⁴.

b. Pengukuran pH *eco-enzyme*

Pengukuran pH dilakukan setelah 14 hari sebagai indikator sudah terbentuknya *eco-enzyme*. Merujuk pada penelitian Gayanti⁵⁹, maka metode yang digunakan untuk mengukur pH *eco-enzyme* adalah dengan menggunakan kertas pH. Jadi pengukuran pH dilakukan pada akhir fermentasi setelah cairan dipisahkan dan ampas kulit buah.

c. Pembuatan konsentrasi *eco-enzyme*

Pertama-tama, siapkan empat jenis larutan *eco-enzyme* dengan konsentrasi berbeda (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %). Merujuk penelitian Gayanti⁵⁹, maka konsentrasi *eco-enzyme* dibuat dengan masing-masing pengenceran sebanyak 10 ml yaitu *eco-enzyme* 2,5 ml (25 %) yang dilarutkan dengan 7,5 ml aquades, *eco-enzyme* 5 ml (50 %) yang dilarutkan dengan 5 ml aquades, *eco-enzyme* 7,5 ml (75 %) yang dilarutkan dengan 2,5 ml aquades, dan *eco-enzyme* 10 ml (100 %) yang tidak perlu dilarutkan. Masing-masing dari larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Konsentrasi *eco-enzyme* berbahan dasar kulit jeruk dan *eco-enzyme* berbahan dasar kulit nanas dibuat dengan mengencerkan *eco-enzyme* dan aquades seperti tertera pada Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Penentuan konsentrasi larutan *eco-enzyme* dibuat dengan campuran larutan *eco-enzyme* (X) di dalam pelarut aquadest (Y).

Konsentrasi	<i>Eco-enzyme</i>	Aquades
25 %	2,5 ml	7,5 ml
50 %	5 ml	5 ml
75 %	7,5 ml	2,5 ml
100 %	10 ml	0 ml

2. Media NA

a. Pembuatan media NA

Cara pembuatan media NA adalah⁵⁸

- 1) Larutkan 20 gram NA dalam 1 liter aquadest di dalam beaker glass,
- 2) Kemudian dipanaskan di atas stirrer hot plate hingga homogen.
- 3) Media NA kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml, lalu disusun dalam beaker glass, setelah itu disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm.
- 4) Media NA yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat.

Dalam penelitian ini media NA yang dibuat adalah sebanyak 3 gr NA dalam 150 ml aquadest

3. *E.coli*

a. Peremajaan bakteri *E. coli*

Merujuk pada penelitian Salsabila⁵⁸, maka bakteri *E. coli* diremajakan pada media nutrient agar (NA)

Cara Peremajaan stok bakteri isolate murni *E. coli* adalah:

- 1) Inokulasikan masing-masing 1 ose biakan pada media NA dalam cawan petri secara steril dalam laminar air flow.
- 2) Perbanyak stok bakteri pada media NA dilakukan dengan teknik cawan gores.
- 3) Kemudian diinkubasi selama 24 jam di dalam incubator.

- 4) Setelah 24 jam bakteri dimasukan ke dalam kulkas untuk menghambat pertumbuhan bakteri sementara sampai bakteri digunakan untuk pengujian.

b. Membuat suspense bakteri *E. coli*

Cara membuat suspense bakteri *E. coli* untuk diinokulasikan pada cawan petri berisi media agar NA, dengan merujuk pada penelitian Ledo⁶⁰, adalah :

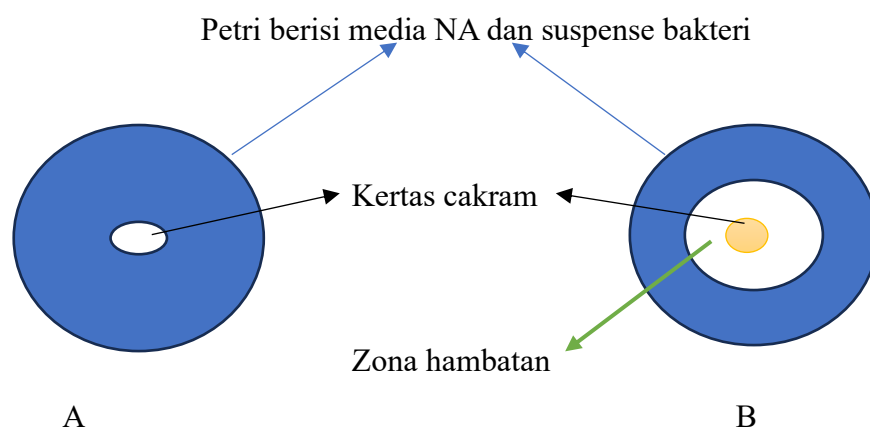
- 1) Bakteri yang diinokulasi pada cawan petri yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak 1 ose bakteri yang telah diremajakan dimasukan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 mL NaCl fisiologis 0,9% menggunakan ose bulat. Isolat bakteri dalam tabung reaksi kemudian di vortex hingga homogen.
- 2) Kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan standar Mc. Farland 0.5 yang setara dengan kepadatan bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

c. Uji daya hambat bakteri *E. coli*

Berdasarkan Nurhaliza dan Tivani⁶¹, uji aktivitas anti bakteri dilakukan dengan melihat zona bening yang menunjukkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dalam penelitian ini untuk melihat zona bening yang terbentuk dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan Sinthalarosa⁶², zona hambat dapat diukur dengan satuan milimeter (mm) menggunakan jangka sorong. Uji antibakteri *E. coli* dilakukan dengan cara berikut⁶³ :

- 1) Dari suspensi yang telah diperoleh diambil sebanyak 100 μ l menggunakan mikropipet dan ditetaskan di atas permukaan media NA yang sudah memadat.
- 2) Suspensi bakteri yang telah diinokulasikan pada permukaan media NA diratakan menggunakan cotton swab steril dan biarkan media selama 15-30 menit di dalam inkubator agar terserap seluruhnya ke dalam agar.
- 3) Selanjutnya metode yang digunakan adalah difusi cakram dengan media pertumbuhan Nutrient Agar.

- 4) Bentuk cakram kertas filter (selanjutnya disebut kertas cakram) dengan menggunakan pelobang kertas dengan diameter kertas sebesar 5,34 mm (diukur untuk memastikan diameternya)
- 5) Tetesi atau rendam kertas cakram tersebut selama 1 menit dengan larutan *eco-enzyme* sesuai konsentrasi perlakuan. Kertas cakram steril yang sudah ditetesi larutan ekoenzim dengan konsentrasi sesuai perlakuan (Tabel 2) diletakkan pada permukaan inokulum bakteri pada media NA menggunakan pinset. Setiap cawan berisi 4 buah kertas cakram dengan masing-masing konsentrasi berbeda (25 %, 50 %, 75 % dan 100 %) diletakkan dengan jarak antar cakram 3 cm dan jarak cakram dari tepi cawan sebesar 2 cm.
- 6) Inkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
- 7) Aktivitas antibakteri ditunjukkan melalui parameter diameter zona hambat (zona jernih) pada keliling kertas cakram dalam satuan milimeter.
- 8) Kekuatan antibakteri dibedakan menjadi empat kategori berdasarkan diameter zona hambat, yaitu diameter zona hambat <5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat >20 mm dikategorikan sangat kuat.



Gambar 3. Lokasi terbentuknya zona hambatan

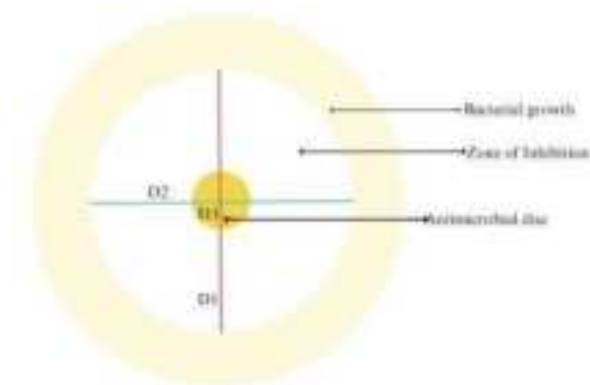
Keterangan gambar : A Petridish yang berisi media dengan suspensi *E.coli* dengan kertas cakram di Tengah (hari pertama) dan gambar B. Setelah 24 jam akan terbentuk zona bening yang merupakan zona hambatannya

Cawan petri yang telah diberi inokulasi bakteri dan berisi kertas cakram yang mengandung larutan *eco-enzyme* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona jernih di sekitar kertas cakram yang terbentuk setelah inkubasi diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm)⁶³.

4. Diameter Zona Hambatan

Perhitungan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri merujuk pada penelitian Salsabila⁵⁸.

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dengan mengambil dua garis yang saling tegak lurus melalui titik pusat cakram (Gambar di bawah ini)



Gambar 4. Ilustrasi Perhitungan Diameter Zona Hambat Bakteri⁵⁸.

Perhitungan diameter zona hambat yang terbentuk dihitung dengan mengukur panjang diameter garis horizontal (D1), diameter garis vertikal (D2), dan dikurangi diameter dari kertas cakram (D3). (D1-D3) dan (D2-D3) hasil dari perhitungan tersebut ditambahkan dan dibagi dua, sehingga akan diperoleh diameter zona hambat bakteri. Untuk rumus lengkapnya sebagai berikut⁵⁸.

$$D = \frac{(D1 - D3) + (D2 - D3)}{2}$$

Keterangan :

D = Diameter zona hambat

D1= Diameter zona hambat horizontal

D2= Diameter zona hambat vertikal

D3= Diameter kertas cakram

G. Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan dengan pengumpulan dan mengolah data hasil pengukuran diameter zona hambatan dari 4 jenis *eco-enzyme* yang digunakan yaitu *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa penambaha EM-4, *eco-enzyme* kulit jeruk dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa penambahan EM-4, dan *eco-enzyme* kulit nanas dengan penambahan EM-4 terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli*.

H. Analisis Data

1. Analisis Univariat

Penulis menggunakan analisa univariat. Analisis univariat adalah jenis analisis tunggal yang hanya fokus pada satu variabel tanpa mempertimbangkan hubungan dengan variabel lainnya. Analisa univariat yang digunakan adalah kekuatan antibakteri yang dibedakan menjadi empat kriteria berdasarkan rata-rata diameter zona hambat (dalam mm) yaitu diameter zona hambat <5 mm termasuk lemah, diameter zona hambat 5-10 mm termasuk sedang, diameter zona hambat 10-20 mm termasuk kuat dan zona hambat >20 mm termasuk sangat kuat .

2. Analisis Bivariat

Analisi bivariat dilakukan terhadap dua kelompok variabel yaitu jenis *eco-enzyme* dan konsentrasi *eco-enzyme* pengaruhnya terhadap diameter zona hambatan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 16, melalui uji Independent-Samples T Test dan One Way Anova.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Gambaran Umum Hasil Penelitian

Dalam penelitian ini penulis menggunakan *eco-enzyme* dari kulit jeruk dan nanas dengan penambahan EM-4 yang difermentasi selama 14 hari. Disamping itu juga dibuat *eco-enzyme* tanpa penambahan EM-4 dengan lama fermentasi 3 bulan.

Ada empat macam *eco-enzyme* yang diuji daya hambatnya terhadap bakteri *E. coli*, yaitu *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit jeruk dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa penambahan EM-4, dan *eco-enzyme* kulit nanas dengan penambahan EM-4. *Eco-enzyme* yang dibuat tanpa penambahan EM-4 difermentasi selama 3 bulan, sedangkan *eco-enzyme* yang dibuat dengan penambahan EM-4 difermentasi selama 14 hari. Penambahan EM-4 ini bertujuan untuk mempercepat proses fermentasi.

Masing-masing jenis *eco-enzyme* kemudian dibuat konsentrasi perlakuan yaitu 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Kertas cakram yang direndam dengan masing-masing perlakuan jenis *eco-enzyme* ditempatkan pada cawan petri yang berisi media NA dan telah diinokulasi dengan suspensi bakteri *E. coli*. Setelah 24 jam di inkubasi, diamati ada atau tidak adanya zona hambatan dan diukur diameter zona hambatan tersebut menggunakan jangka sorong.

2. Analisis Univariat

a. pH, warna, dan bau *eco-enzyme*

Eco-enzyme yang sudah jadi, dilihat dari warna, bau dan pH. Jika warnanya coklat, tidak berbau busuk dan pH dibawah 4 maka dapat disimpulkan *eco-enzyme* sudah terbentuk. Bila kriteria tidak terpenuhi, maka *eco-enzyme* gagal terbentuk, dan harus diulang pembuatannya. Biasanya kegagalan ini karena tidak memperhatikan bahan yang digunakan, misalnya adanya bahan pengawet pada bahan yang digunakan atau bahan yang digunakan busuk. Jadi dalam penelitian ini penulis

menghindari penggunaan bahan yang terindikasi tidak alami seperti molase yang mengandung bahan pengawet dan kulit buah yang mengandung pestisida. Pemilihan kulit buah yang digunakan adalah yang segar dan dicuci bersih untuk menghilangkan pestisida yang ada pada kulit buah tersebut.

Hasil pengamatan pH, warna, dan bau pada *eco-enzyme* dapat dilihat pada tabel di Lampiran 3. Semua jenis *eco-enzyme* (*eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4, *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4) memiliki pH 3. Sedangkan warna bervariasi coklat tua pada *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 dan *eco-enzyme* nanas dengan EM-4, warna coklat sedang pada *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4, dan warna coklat kekuningan pada *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4.

b. Peremajaan bakteri *E. coli*

Peremajaan dan perbanyak stok bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan masing-masing 1 ose biarkan pada media NA dalam cawan petri secara steril dalam laminar air flow. Penulis menggunakan media NA dimana Nutrien Agar merupakan media yang berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan dan apabila setelah digunakan akan berbentuk padat karena terdapat kandungan agar sebagai pematatnya. Komposisi yang terpenting dalam media ini adalah karbohidrat dan protein yang terdapat pada ekstrak daging dan pepton sesuai dengan kebutuhan sebagian besar bakteri.

c. Diameter zona hambatan

Uji aktivitas daya hambat *eco-enzyme* kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap bakteri dilakukan dengan metode difusi agar yaitu dengan menempelkan kertas cakram yang telah direndam dengan perlakuan konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, 100 %, aquades (kontrol negatif) dan alkohol 70 % (kontrol positif) pada bakteri *Escherichia coli* dan yang telah ditumbuhkan terlebih dahulu pada media NA.

Demikian juga untuk uji aktivitas daya hambat *eco-enzyme* kulit jeruk (*Citrus sinensis*) terhadap bakteri dilakukan dengan metode difusi agar yaitu dengan menempelkan kertas cakram yang telah direndam dengan perlakuan konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, 100 %, aquades (kontrol negatif) dan alkohol 70 % (kontrol positif) pada bakteri *Escherichia coli* dan yang telah ditumbuhkan terlebih dahulu pada media NA

Analisis univariat adalah jenis analisis tunggal yang hanya fokus pada satu variabel tanpa mempertimbangkan hubungan dengan variabel lainnya. Analisa univariat yang digunakan adalah kekuatan antibakteri yang dibedakan menjadi empat kriteria berdasarkan rata-rata diameter zona hambat (dalam mm) yaitu diameter zona hambat <5 mm termasuk lemah, diameter zona hambat 5-10 mm termasuk sedang, diameter zona hambat 10-20 mm termasuk kuat dan zona hambat >20 mm termasuk sangat kuat .

Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Rata – rata hasil pengukuran diameter zona hambatan dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Diameter Zona Hambatan Menggunakan *Eco-enzyme*
Kulit Jeruk (dalam mm)

Kel.	Perlakuan							
	<i>eco-enzyme</i> dari kulit jeruk							
	25%		50%		75%		100%	
	Tanpa EM4	Penam bahan EM4	Tanpa EM4	Penam bahan EM4	Tanpa EM4	Penam bahan EM4	Tanpa EM4	Penam bahan EM4
1	1,5	2	2,5	3	2,5	4	4	3,5
2	2	3	2	4	3,5	3	5,5	3,5
3	2	2,5	2,5	2	3	3	5	4
4	1,5	1	1,5	1	2,5	3	4	3
Rata-rata	1,75	2,5	2,125	2,5	2,875	3,25	4,625	3,5

Tabel 4. Diameter Zona Hambatan Menggunakan *Eco-enzyme*
Kulit Nanas (dalam mm)

Kel.	Perlakuan							
	<i>eco-enzyme</i> dari kulit nanas							
	25%		50%		75%		100%	
	Tanpa EM4	Penam bahan EM4	Tanpa EM4	Penam bahan EM4	Tanpa EM4	Penam bahan EM4	Tanpa EM4	Penam bahan EM4
1	2	2	2	3,5	3	2	6	3
2	2,5	2	3,5	2,5	3	2,5	6	3,5
3	2,5	1,5	2,5	1,5	3	3,5	6	4,5
4	2	2	3	2,5	3,5	3	6	3,5
Rata-rata	2,25	1,875	2,75	2,5	3,125	2,75	6	3,625

3. Analisis Bivariat

- a. Perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* masing-masing pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 % secara statistik maka dilakukan uji-t independen. Hasil ujinya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5. Hasil Analisa Uji Independent-Samples T Test untuk
Eco-enzyme Kulit Jeruk Konsentrasi
25 %, 50 %, 75 % dan 100 %

Jenis <i>Eco-enzyme</i>	Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambatan (mm)		P (value)
		Tanpa EM-4	Dengan EM-4	
Kulit Jeruk	25%	1,750	2,125	0,437
	50%	2,125	2,500	0,606
	75%	2,875	3,250	0,320
	100%	4,625	3,500	0,039

Dari Tabel 5 diatas terlihat bahwa berdasarkan uji Independent-Samples T Test untuk kulit jeruk pada konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % didapatkan hasil bahwa nilai (p value berturut- turut adalah 0,437; 0,606; 0,320 dimana lebih besar dari alpha 0,05 (signifikan) atau H_0 diterima, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik tidak ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 dan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 % dan 75 %. Tetapi pada konsentrasi 100 % diperoleh (p value = 0,039) dimana lebih kecil dari alpha 0,05 (tidak signifikan) atau H_0 ditolak, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 dan *eco-enzyme*

kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 100 %. Uji lanjut tidak dilakukan karena tidak ada perbedaan antara kedua kelompok *eco-enzyme* yang dibandingkan.

- b. Perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* masing-masing pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 % secara statistik maka dilakukan uji-t independen. Hasil ujinya dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 6. Hasil Analisa Uji Independent-Samples T Test untuk
Eco-enzyme Kulit Nanas Konsentrasi
25 %, 50 %, 75 % dan 100 %

Jenis <i>Eco-enzyme</i>	Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambatan(mm)		P (value)
		Tanpa	Dengan	
		EM-4	EM-4	
Kulit nanas	25%	2,250	1,875	0,097
	50%	2,750	2,500	0,648
	75%	3,125	2,750	0,320
	100%	6,000	3,625	0,000

Berdasarkan Tabel 6 terlihat bahwa hasil uji Independent-Samples T Test untuk kulit nanas pada konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % didapatkan hasil bahwa nilai (p value berturut - turut adalah 0,097; 0,648; 0,320 dimana lebih besar dari alpha 0,05 (signifikan) atau H_0 diterima, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik tidak ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 dan dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 % dan 75 %. Tetapi pada konsentrasi 100 % diperoleh (p value = 0,000) dimana lebih kecil dari alpha 0,05 (tidak signifikan) atau H_0 ditolak, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit

nanas tanpa EM-4 dan dengan EM-4 pada konsentrasi 100 %. Uji lanjut tidak dilakukan karena tidak ada perbedaan antara kedua kelompok *eco-enzyme* yang dibandingkan.

- c. Diketahui perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Tabel 7. Hasil Uji One Way ANOVA untuk *Eco-enzyme*
Kulit Jeruk tanpa EM-4

No	Daya hambat bakteri perlakuan <i>eco-enzyme</i> tanpa EM-4 pada konsentrasi				P (value)
	25 %	50 %	75 %	100 %	
1	1,5	2,5	2,5	4	0,0001
2	2	2	3,5	5,5	
3	2	2,5	3	5	
4	1,5	1,5	2,5	4	

Berdasarkan tabel 7 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p \text{ value} = 0,0001$ ($p < 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 ditolak yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Untuk melihat perbedaan paling nyata dilakukan uji post hoc dimana adanya perbedaan konsentrasi 25 % dan 100 %.

- d. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Tabel 8. Hasil Uji One Way ANOVA untuk *Eco-enzyme*
Kulit Jeruk dengan EM-4

No	Daya hambat bakteri perlakuan <i>eco-enzyme</i> dengan EM-4 pada konsentrasi				P (Value)
	25 %	50 %	75 %	100 %	
1	2	3	4	3,5	0,126
2	3	4	3	3,5	
3	2,5	2	3	4	
4	1	1	3	3	

Berdasarkan tabel 8 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p \text{ value} = 0,126$ ($p > 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 diterima yang menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Untuk melihat perbedaan paling nyata dilakukan uji post hoc dimana adanya perbedaan konsentrasi 25 % dan 100 %.

- e. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Tabel 9. Hasil Uji One Way ANOVA untuk *Eco-enzyme*
Kulit Nanas tanpa EM-4

No	Daya hambat bakteri perlakuan <i>eco-enzyme</i> tanpa EM-4 pada konsentrasi				P (Value)
	25 %	50 %	75 %	100 %	
1	2	2	3	6	0,0001
2	2,5	3,5	3	6	
3	2,5	2,5	3	6	
4	2	3	3,5	6	

Berdasarkan tabel 9 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p \text{ value} = 0,0001$ ($p < 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 ditolak yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Untuk melihat perbedaan paling nyata dilakukan uji post hoc dimana adanya perbedaan konsentrasi 25 % dan 100 %.

- f. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Tabel 10. Hasil Uji One Way ANOVA untuk *Eco-enzyme*

Kulit Nanas dengan EM-4					
No	Daya hambat bakteri perlakuan <i>eco-enzyme</i> dengan EM-4 pada konsentrasi				P (Value)
	25 %	50 %	75 %	100 %	
1	2	3,5	2	3	0,013
2	2	2,5	2,5	3,5	
3	1,5	1,5	3,5	4,5	
4	2	2,5	3	3,5	

Berdasarkan tabel 10 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p \text{ value} = 0,013$ ($p < 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 ditolak yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Untuk melihat perbedaan paling nyata dilakukan uji post hoc dimana adanya perbedaan konsentrasi 25 % dan 100 %.

B. Pembahasan

1. Analisis Univariat

a. pH, bau, dan warna *eco-enzyme*

Memperhatikan Tabel 3, dapat disimpulkan bahwa *eco-enzyme* sudah terbentuk. Hal ini sesuai dengan kriteria terbentuknya *eco-enzyme* yaitu $\text{pH} < 4$ (kondisi asam)⁴⁸, aroma asam segar yang kuat³⁰ dan warna coklat⁵⁰. Warna ideal dari *eco-enzyme* adalah kecoklatan⁵¹. Menurut kajian literatur fermentasi *eco-enzyme* dapat dikatakan berhasil jika terbentuk larutan berwarna kecoklatan dan memiliki bau seperti jeruk atau bau seperti buah-buahan dan memiliki pH dibawah 4 atau pH asam⁵².

b. Peremajaan bakteri *E. coli*

Eschericia coli dibiakan dalam media NA. Media NA merupakan media sintesis dengan kandungan tinggi karbohidrat dan protein yang mendukung pertumbuhan bakteri.⁶⁴

Dari pengamatan terhadap pinggiran koloni tampak mulus dan rapi dengan ukuran yang permukaan koloni cembung dan berwarna putih kekuningan. Ini sesuai dengan yang dikemukakan Wijaya A F dan Destiawan RA bahwa koloni *E. coli* pada media NA secara makroskopis berbentuk bulat, cembung dan lembut dengan tepi yang halus, berukuran kecil sampai sedang, lembab, serta berwarna putih kekuningan.⁶⁴ Menurut Sakinah, media NA merupakan media yang sudah teruji secara klinis baik untuk pertumbuhan bakteri, sehingga proses metabolisme bakteri dapat berlangsung secara optimal dan waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri relatif cepat dalam kondisi nutrisi yang baik.⁶⁵

Terbentuknya zona bening disekitar partumbuhan bakteri *Escherichia coli* menandakan adanya proses penghambatan pertumbuhan bakteri oleh *eco-enzyme*, semakin besar zona bening menandakan semakin besar pula kemampuan menghambat *eco-enzyme*.

c. diameter zona hambatan

Analisa univariat yang digunakan adalah kekuatan antibakteri yang dibedakan menjadi empat kriteria berdasarkan rata-rata diameter zona

hambat (dalam mm) yaitu diameter zona hambat <5 mm termasuk lemah, diameter zona hambat 5-10 mm termasuk sedang, diameter zona hambat 10-20 mm termasuk kuat dan zona hambat >20 mm termasuk sangat kuat.

Dari Tabel 3. dan Tabel 4. di atas terlihat bahwa rata-rata diameter zona hambatan bertambah dengan bertambahnya konsentrasi yang digunakan. Terbentuknya zona bening disekitar partumbuhan bakteri *Escherichia coli* menandakan adanya proses penghambatan pertumbuhan bakteri oleh *eco-enzyme*, semakin besar zona bening menandakan semakin besar pula kemampuan menghambat *eco-enzyme*. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa penghambatan aktivitas pertumbuhan bakteri semakin besar jika konsentrasi larutan uji yang digunakan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan kandungan metabolit yang bersifat sebagai antibakteri di dalam larutan uji semakin besar.⁶⁶ Diameter zona hambatan tergolong rendah sampai sedang karena angka rata-rata diameter zona hambatan berkisar 1,75 mm sampai dengan 6 mm.

2. Analisis Bivariat

- a. Perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Dari Tabel 5 diatas terlihat bahwa berdasarkan uji Independent-Samples T Test untuk kulit jeruk pada konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % didapatkan hasil bahwa nilai (*p value* berturut- turut adalah 0,437; 0,606; 0,320 dimana lebih besar dari alpha 0,05 (signifikan) atau H_0 diterima, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik tidak ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 % dan 75 %. Tetapi pada konsentrasi 100 % diperoleh (*p value* = 0,039) dimana lebih kecil dari alpha 0,05 (tidak signifikan) atau H_0 ditolak, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4 pada konsentrasi 100 %.

Uji lanjut tidak dilakukan karena tidak ada perbedaan antara kedua kelompok *eco-enzyme* yang dibandingkan

Hasil uji Independent-Samples T Test pada jenis *Eco-enzyme* kulit jeruk baik tanpa maupun dengan penambahan EM-4 menunjukkan tidak adanya perbedaan yang berarti sampai pada perlakuan konsentrasi 75 %. Namun pada perlakuan 100 % terlihat adanya perbedaan yang berarti terhadap rata-rata diameter zona hambatan yang terbentuk. Kalau diamati dari rata-rata diameter zona hambatan, maka *eco-enzyme* kulit jeruk tertinggi terdapat pada yang tanpa penambahan EM-4. Kemungkinan hal ini karena terbentuknya antibakteri pada *eco-enzyme* lebih baik pada *eco-enzyme* yang difermentasi lebih lama, dalam hal ini lama fermentasi tanpa EM-4 adalah 30 hari, sedangkan yang dengan penambahan EM-4 fermentasi selama 14 hari.

- b. Perbedaan rata-rata daya hambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan EM-4, pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Berdasarkan Tabel 6 terlihat bahwa hasil uji Independent-Samples T Test untuk kulit nanas pada konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % didapatkan hasil bahwa nilai (*p value* berturut - turut adalah 0,097; 0,648; 0,320 dimana lebih besar dari alpha 0,05 (signifikan) atau H_0 diterima, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik tidak ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 % dan 75 %. Tetapi pada konsentrasi 100 % diperoleh (*p value* = 0,000) dimana lebih kecil dari alpha 0,05 (tidak signifikan) atau H_0 ditolak, sehingga disimpulkan bahwa secara statistik ada perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 pada konsentrasi 100 %. Uji lanjut tidak dilakukan karena tidak ada perbedaan antara kedua kelompok *eco-enzyme* yang dibandingkan.

Hasil uji Independent-Samples T Test pada jenis *eco-enzyme* kulit nanas daya hambat tanpa maupun dengan penambahan EM-4 menunjukkan

tidak adanya perbedaan yang berarti sampai pada perlakuan konsentrasi 75 %. Namun pada perlakuan 100 % terlihat adanya perbedaan yang berarti terhadap rata-rata diameter zona hambatan yang terbentuk. Kalau diamati dari rata-rata diameter zona hambatan, maka *eco-enzyme* kulit nanas tertinggi terdapat pada yang tanpa penambahan EM-4. Kemungkinan hal ini karena terbentuknya antibakteri pada *eco-enzyme* lebih baik pada *eco-enzyme* yang difermentasi lebih lama, dalam hal ini lama fermentasi tanpa EM-4 adalah 30 hari, sedangkan yang dengan penambahan EM-4 fermentasi selama 14 hari. Daya hambat *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 memiliki diameter zona hambatan rata-rata 6 mm yang tergolong sedang, dimana semua jenis *eco-enzyme* yang diuji tergolong rendah.

c. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Berdasarkan tabel 7 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p \text{ value} = 0,0001$ ($p < 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 ditolak yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Walaupun dari hasil uji One Way ANOVA terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi perlakuan, ternyata setelah dilakukan uji lanjut terdapat perbedaan yang signifikan hanya antara perlakuan konsentrasi 25 % dengan konsentrasi 75 % dan 100 %; dan perlakuan 50 %, 75 % dengan perlakuan 100 %. Sedangkan untuk konsentrasi 25 % dengan 50 % dan 50 % dengan 75 % tidak ada perbedaan secara statistik. Artinya konsentrasi *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 memberikan pengaruh atau tidak ditentukan oleh konsentrasinya.

d. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Berdasarkan tabel 8 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p \text{ value} = 0,126$ ($p > 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 diterima yang menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan daya hambat

pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Walaupun dari hasil uji one way anova tidak terdapat perbedaan yang berarti rata-rata diameter zona hambatan bakteri, namun dalam uji lanjut, jika dibandingkan perlakuan konsentrasi 25 % dengan 100 % terdapat perbedaan yang berarti. Ini menunjukkan bahwa perbedaan pengaruh konsentrasi *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 baru terlihat pada konsentrasi tinggi.

- e. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Berdasarkan tabel 9 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p\text{ value} = 0,0001$ ($p < 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 ditolak yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Hasil uji One Way ANOVA diketahui terdapat perbedaan yang berarti antara rata-rata diameter zona hambatan bakteri dengan konsentrasi yang diujikan. Namun dari uji lanjut ditemukan ada yang tidak berbeda, yaitu antara konsentrasi 25 % dengan 50 %, dan 50 % dengan 75 %.

- f. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %.

Berdasarkan tabel 10 dari hasil uji One Way ANOVA diperoleh nilai ($p\text{ value} = 0,013$ ($p < 0,05$)). Ini berarti hipotesis H_0 ditolak yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan daya hambat pertumbuhan bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 dengan beberapa konsentrasi (25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %).

Walaupun dari hasil uji one way anova tidak terdapat perbedaan yang berarti rata-rata diameter zona hambatan bakteri, namun dalam uji lanjut, jika dibandingkan perlakuan konsentrasi 25 % dengan 100 % dan 50 % dan 100 % terdapat perbedaan yang berarti. Ini menunjukkan bahwa perbedaan pengaruh konsentrasi *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 baru

terlihat pada konsentrasi tinggi 25 % dan 50 % dibandingkan dengan konsentrasi 100 %.

Terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa ekstrak memiliki senyawa aktif antibakteri. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *eco-enzyme* kulit nanas dan jeruk menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 % dan 100 %. Namun nilai diameter zona hambatan yang didapatkan pada konsentrasi *eco-enzyme* 100 % memiliki nilai rerata tertinggi yaitu 6 mm. Jika mengacu pada parameter daya hambat hasil yang didapatkan termasuk kedalam kategori memiliki respon hambatan pertumbuhan bakteri yang sedang. Dalam penelitian ini semua termasuk ke dalam kategori respon hambatan pertumbuhan bakteri yang lemah, kecuali perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 konsentrasi 100 % tergolong sedang. Dari penelitian juga terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi *eco-enzyme* maka semakin bertambah diameter zona hambatannya. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hendri yang menyebutkan bahwa adanya penghambatan aktivitas pertumbuhan bakteri semakin besar jika konsentrasi larutan uji yang digunakan semakin tinggi, hal ini karena adanya kandungan metabolit pada *eco-enzyme* nanas yang memiliki sifat sebagai antibakteri di dalam larutan uji yang semakin besar.⁶⁶

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa *eco-enzyme* kulit nanas (*Ananas comosus* L) dan *eco-enzyme* kulit jeruk (*Citrus sinensis*) memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* namun nilai efektivitas penghambatan terlalu kecil sehingga dimasukkan kedalam kategori memiliki daya hambat yang lemah. Adanya aktivitas senyawa antibakteri yang ada didalam kandungan *eco-enzyme* berupa alkohol, asam asetat dan senyawa metabolit sekunder. Mekanisme lain dari alkohol ini yaitu bekerja dengan cara mendenaturasi protein-protein yang ada di dalam sel sehingga kinerja enzim yang dihasilkan bakteri terhambat dan mengganggu metabolisme seluler. Senyawa metabolit

sekunder seperti Flavonoid dan Tanin bersifat antibakteri karena kemampuannya dalam menginaktivasi adhesin dan mengganggu transport protein bakteri, selain itu juga dapat mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang dapat mengakibatkan sel bakteri mengalami lisis atau pecah, *eco-enzyme* juga mengandung saponin yang bersifat toksik terhadap bakteri dengan cara merusak protein pembentuk membran sel. Selain itu enzim bromelin juga merupakan salah satu kandungan dari *eco-enzyme* nanas yang juga bersifat antibakteri.⁶⁷ Sifat gram bakteri menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi ada atau tidaknya daya hambat suatu larutan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lestari bahwa uji aktivitas penghambatan antibakteri terhadap bakteri gram positif lebih kuat dibandingkan dengan 13 bakteri gram negatif, hal ini karena sifat lisis yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dibandingkan dengan struktur dinding sel bakteri gram positif.⁶⁸ Pada bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam, sedangkan bakteri gram positif hanya memiliki lapisan tunggal pada dinding selnya. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hamida menambahkan bahwa struktur dinding sel bakteri gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.⁶⁹ Sehingga saat dilakukan pemberian *eco-enzyme* dengan berbagai konsentrasi pada bakteri *E. coli*, membutuhkan waktu cukup lama untuk menghambat pertumbuhan bakteri untuk dapat membentuk zona bening karena bakteri *E. coli* termasuk bakteri gram negatif.

Diameter zona hambat pada perlakuan menggunakan bakteri *Escherichia coli* mengalami perbedaan yang kurang teratur. Menurut Pratama korelasi antara diameter zona hambat dengan kenaikan konsentrasi tidak selalu berbanding lurus dikarenakan pada media agar kecepatan difusi senyawa antibakteri berbeda, selain itu konsentrasi dan jenis dari senyawa juga dapat mempengaruhi pembentukan diameter zona hambat yang

berbeda dan dapat juga berpengaruh terhadap aktivitasnya.⁶⁷ Hal ini juga didukung oleh pendapat Ningtyas yang menyatakan bahwa senyawa yang bersifat polar sukar untuk melalui dinding sel gram negatif karena kandungan dinding sel bakteri gram negatif terdiri atas kandungan lipid yang lebih banyak dari pada sel bakteri gram positif yang kandungan dinding selnya adalah peptidoglikan.⁷⁰

Beberapa faktor lainnya yang bisa mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menurut Pratama yaitu kekeruhan suspensi, jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar, sebaliknya jika suspensi lebih keruh maka diameter zona hambatnya akan semakin kecil, dalam mengukur kekeruhan suspensi baiknya menggunakan suatu alat yaitu Nephelometer agar kekeruhan bakteri lebih akurat saat dibandingkan pada Mc farland 0,5.⁶⁷ Pada penelitian ini pengukuran kekeruhan suspensi menggunakan perbandingan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang dilakukan dengan melihat secara makroskopis kekeruhan pada suspensi secara visual dan juga menggunakan densitometer.

Ketebalan pada media agar yang digunakan sebagai pertumbuhan bakteri juga menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan diameter zona hambat. Ketebalan pada agar-agar yang efektif yaitu sekitar 4 mm, jika ketebalan agar tersebut kurang dari 4 mm maka difusi ekstrak akan menjadi lebih cepat, sedangkan jika lebih dari 4 mm maka difusi ekstrak akan lebih lambat. Pada penelitian ini tidak ada dilakukannya pengukuran ketebalan pada media NA yang digunakan, sehingga tidak diketahui ketebalan pada media agar tersebut.

Sebagai pembanding pada hasil penelitian ini maka diperlukan referensi tentang zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif. Kontrol positif yang di ambil untuk menjadi referensi adalah alkohol 70 % karena alkohol termasuk antiseptik. Menurut Pratama, zona hambat yang terbentuk oleh alkohol 70 % pada bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 9.3 mm yang juga lebih besar dibandingkan zona hambat tertinggi yang terbentuk pada ekoenzim kulit nanas konsentrasi 75 % yaitu sebesar 2.75 mm. Oleh sebab

itu, dapat disimpulkan bahwa daya hambat ekoenzim terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* lebih rendah dibandingkan dengan alkohol 70 % yang bersifat antiseptik.⁶⁷ Namun dalam penelitian ini zona hambatan yang terbentuk berkisar 3,125 sampai 6,25 dan termasuk kategori lemah sampai sedang, lebih tinggi dibandingkan dengan *eco-enzyme* kulit jeruk yang tergolong lemah. Begitu juga dengan *eco-enzyme* kulit nanas, kecuali *eco-enzyme* kulit nanas tanpa penambahan EM-4 konsentrasi 100 % dengan rata-rata diameter zona hambatan 6 mm tergolong sedang.

Berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk pada media uji, baik *eco-enzyme* kulit jeruk maupun nanas, dengan atau tanpa penambahan EM-4, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Ini dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat, meskipun kekuatannya bervariasi.

Perlakuan 100 % lebih besar atau sama dengan perlakuan 75 %. Ini dapat diartikan terjadi peningkatan efek perlakuan seiring peningkatan konsentrasi *eco-enzyme* dari 25 % hingga 100 %. artinya mulai terlihat peningkatan signifikan dibanding perlakuan rendah. Perlakuan 100 % hampir setara dengan kontrol positif, tetapi belum sepenuhnya menyamai (masih subset berbeda). Kontrol positif paling tinggi secara signifikan.

Sedangkan penggunaan kontrol negatif yaitu menggunakan aquadest yang bertujuan untuk membuktikan bahwa aquadest tidak memiliki zat antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan kontrol negatif terbukti tidak memiliki respon penghambatan atau tidak terbentuk adanya zona hambatan. Secara umum, *eco-enzyme* yang terbuat dari kulit nanas (baik dengan maupun tanpa EM-4) menghasilkan zona hambatan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan tujuan dan hasil penelitian tentang pengaruh *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *e.coli*, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Rata-rata daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa dan dengan penambahan EM-4 konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % tidak memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih besar dari 0,05, tetapi pada konsentrasi 100 % memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih kecil dari 0,05.
2. Rata-rata daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa dan dengan penambahan EM-4 konsentrasi 25 %, 50 %, dan 75 % tidak memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih besar dari 0,05, tetapi pada konsentrasi 100 % memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih kecil dari 0,05.
3. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %, menunjukkan ada memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih besar dari 0,05.
4. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit jeruk dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %, menunjukan tidak ada memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih besar dari 0,05.
5. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %, menunjukan ada memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih kecil dari 0,05.
6. Perbedaan daya hambat bakteri dengan perlakuan *eco-enzyme* kulit nanas dengan EM-4 pada konsentrasi 25 %, 50 %, 75 %, dan 100 %, menunjukan ada memberikan pengaruh yang nyata karena (*p value*) lebih kecil dari 0,05.
7. *Eco-enzyme* kulit jeruk dan kulit nanas dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, yang terbaik pada *Eco-enzyme* kulit nanas tanpa EM-4

perlakuan 100 % dengan kriteria hambatan sedang yaitu rata-rata diameter zona hambatan 6 mm.

B. Saran

1. Bagi Masyarakat

- a. Diharapkan agar masyarakat dapat memanfaatkan kulit jeruk dan nanas dengan membuat *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas untuk keperluan higiene sanitasi atau manfaat lainnya.
- b. Disarankan agar penggunaan *eco-enzyme* yang dalam pembuatannya menambahkan EM-4 tidak digunakan untuk cuci piring dan cuci tangan karena belum adanya informasi penelitian bahaya tidaknya akibat penambahan EM-4 tersebut.

2. Bagi Pemerintah

- a. Untuk menyediakan sarana yang mendukung terlaksananya pengelolaan sampah organik menjadi *eco-enzyme*
- b. Untuk memberikan informasi tentang *eco-enzyme* menyangkut pembuatan dan pemanfaatannya sebagai antibakteri

3. Bagi Peneliti

- a. Diharapkan kepada peneliti selanjutnya agar dapat meneliti lebih lanjut mengenai *eco-enzyme* kulit jeruk dan nanas terutama tentang cara meningkatkan zona hambatan sebagai anti bakteri agar tergolong kuat, misalnya dengan menambah waktu fermentasi, atau mengkombinasikan kulit buah dengan perbandingan tertentu.
- b. Diharapkan adanya penelitian lanjut tentang ada tidaknya bahaya penggunaan *eco-enzyme* dengan penambahan EM-4 bila digunakan untuk keperluan cuci piring dan cuci tangan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hainil S, Elfasyari TY dan Sulistya R I. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* susu kedelai murni di Pasar Jodoh Kota Batam. J. Surya Med. 2021; 7 (1): 25-30.
2. Fatimah S, Hekmah N, Fathullah, DM. dan Norhasanah, N. Cemaran mikrobiologi pada makanan, alat makan, air dan kesehatan penjamah makanan di Unit Instalasi Gizi Rumah Sakit X di Banjarmasin. J. Nutr. Coll. 2022; 11(4): 322-327.
3. Sugiarto, Subakir, Pitriyani. Faktor risiko kejadian diare pada balita. Contagion . Scientific Periodical of Public Health and Coastal Health. 2019 ; 1(1) : 21-31.
4. Saflia I . Penilaian Risiko Kuantitatif Mikroba bakteri *Escherichia coli* pada makanan di Kantin RSUD Kota Kendari Tahun 2020. [tesis]. Makasar: Universitas Hasanuddin Makassar; 2020.
5. Walid DL, Sitti A, Afiah N dan Rahman I. Identifikasi *Escherichia coli* pada makanan di lingkungan Kampus II Universitas Khairun. Kieraha Medical Journal. 2021; 3(1): 268-5912.
6. Siwi VH dan Mogeia AR. Bakteri *Escherichia coli* pada saus kacang jajanan cilok di Kota Manado. Maj. InfoSains. 2022; 3(2): 90-94.
7. Herlina A, Nugraheni IA, Sutopo MN dan Septiana AN. Deteksi bakteri Coliform dan *Escherichia coli* menggunakan metode penyaringan membran filter pada uji sampel air minum konsumen. Pros. Semin. Nas. Penelit. dan Pengabdi. Kpd. Masy. LPPM Univ. 'Aisyiyah Yogyakarta . 2023; 1: 504-510.
8. Kementerian Kesehatan. Permenkes No. 2 Tahun 2023. Kemenkes Republik Indones. 2023; 1–175.
9. Farhan M, Chusniasih D dan Marcellia S. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun tin (*Ficus carica* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Program Studi. Pharmacon. 2022; 11(1): 1328-1334.
10. Rosalina V, Nurmaulawati R. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herba krokot (*Portulaca oleracea* L) pada bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Pengembangan Ilmu dan Praktik Kesehatan. 2024; 3(3): 136-145.
11. Rusdiana RY dan Fariroh I. Pemanfaatan sampah rumah tangga sebagai pupuk kompos di Desa Sebanen, Kalisat, Jember. J. Pengabdi. Magister Pendidik. IPA . 2023; 6(2): 252-256.
12. Rahmat FN. Analisis pemanfaatan sampah organik menjadi energi alternatif biogas. J. Energi Baru dan Terbarukan. 2023; 4(2): 118-122.
13. Marlina N, Aryani I, Asmawati, Khodijah, Aminah S, Hawayanti E, et al. Pemanfaatan sampah organik menjadi pupuk organik cair di Kelurahan Karang Anyar Kota Palembang. Altifani J. Int. J. Community Engagem. 2022; 2(2): 73-77.
14. Yulistiar FW dan Manggalou S. Inovasi *eco-enzyme* dalam mendukung pemerintah menuju net zero emission di Indonesia. Public Inspir. J. Adm. Publik. 2023; 8(1): 50-60.
15. Ginting N, Hasnudi, and Yunilas. *Eco-enzyme* disinfection in pig housingas an effort to suppress *Esherechia coli* population. Jurnal Sain Peternakan

- Indonesia. 2021; 16(3): 283-287.
16. Vama L and Cherekar MN. Production, extraction and uses of eco-enzyme using citrus fruit waste: wealth from Waste. Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc. 2020; 22 (2): 346-351.
 17. Mavani HAK, Tew IM, Wong L, Yew HZ, Mahyuddin H, Ghazali RA, et al. Antimicrobial efficacy of fruit peels eco-enzyme against enterococcus faecalis: an in vitro study. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2020; 17: 1-12.
 18. Tallei TE, Fatimawali, Niode NJ, Alsaihati WM, Salaki CL, Alissa M, et al. Antibacterial and antioxidant activity of *eco-enzyme* solution prepared from papaya, pineapple, and kasturi orange fruits: experimental and molecular docking studies. J. Food Process. Preserv. 2023; 11.
 19. Ginting N, Hasnudi Yunilas dan Prayitno L. Dilution of eco-enzyme and antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. JITRO (Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis).2022; 9(1): 123-128.
 20. Ramadani AH , Karima R , Ningrum RS. Antibacterial activity of pineapple peel (ananas comosus) eco-enzyme against acne bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Prapionibacterium acnes*) Indo. J. Chem. Res. 2022; 9(3): 201-207.
 21. Rahayu MR, Muliarta IN dan Situmeang YP. Acceleration of production natural disinfectants from the combination of eco-enzyme domestic organic waste and frangipani flowers (*Plumeria alba*). SEAS (Sustainable Environ. Agric. Sci. 2021; 5(1): 15-21.
 22. Rahayu WP, Nurjanah S. dan Komalasari E. *Escherichia coli*: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko. Bogor: IPB Press; 2018.
 23. Widhah SF. Analisis Kelimpahan bakteri *Escherichia coli* di kawasan wisata Pantai Mallasoro Kabupaten Jeneponto [skripsi]. Makasar: Universitas Hasanuddin; 2022.
 24. Azmin N, Nasir M, Hartati H, Ariyansyah A. dan Fahrudin F. Traditional medicinal plants in bima communities: a bacterial activities test and phytochemicals. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 2021; 755.
 25. Suryani Y dan Taupiqurrahman O. Mikrobiologi Dasar. Cetakan pertama. LP2M UIN SGD Bandung; 2021.
 26. Bria DI, Missa H dan Sombo IT. Isolasi dan karakterisasi bakteri *Escherichia coli* pada bahan pangan berbasis daging di Kota Kupang. J. Sains dan Terap. 2022; 1(2): 82-89.
 27. Umarudin, Adnyana IGA, Rohayati, Slamet NS, Sembiring F, Rakanita Y, et al. Bakteriologi 2. Bandung: CV. Media Sains Indonesia Melong Asih Regency; 2023.
 28. Apriani, Bintari NWD, Ilsan NA, Istyanto F, Suhartati R, Dewi RK, et al. Bakteriologi. Makasar: PT. Masagena Mandiri Medica; 2023.
 29. Rini CS dan Rohmah J. Bakteriologi Dasar. Sidoarjo: UMSIDA press; 2022.
 30. Rochyani N, Utpalasari R L dan Dahliana I. Analisis hasil konversi *eco-enzyme* menggunakan nenas (*Ananas comosus*) dan pepaya (*Carica papaya* L.). J. Redoks. 2020; 5(2): 135-140.
 31. Hemalatha M dan Visantini P. Potential use of *Eco-enzyme* for the treatment

- of metal based effluent. IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng. 2020; 716.
32. Widyasari NL dan Wiratama IGNM. Studi teknik bioremediasi tanah tercemar logam berat dengan menggunakan *eco-enzyme*. J. Ecocentrism. 2021; 1(2): 89-95.
 33. Prasetyo FM, Ristiawati T, Philiyanti F. Manfaat *eco-enzyme* pada lingkungan hidup serta workshop pembuatan *eco-enzyme*. Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Darmacitya. 2021; 1(1): 21-29.
 34. Zultaqawa Z, Firdaus IN, Aulia MD. Manfaat *eco-enzyme* pada lingkungan. CRANE Civ. Eng. Res. J. 2023; 4(2): 10-14.
 35. Widayastuti S, Sutrisno J, Wiyarno Y, Gunawan, W dan Nurhayati I. *Eco-enzyme* untuk pengolahan air limbah tahu. WAKTU J. Tek. UNIPA. 2023; 21(2): 51-59.
 36. Widyasari IAPG, Wisnu TGB dan Somayani PLP. Kegiatan pembuatan *eco-enzyme* untuk pengelolaan dan pengolahan limbah cair-a pada instalasi pengolahan air limbah di RSUD Tabanan. Dharma Sevanam J. Pengabdian Masy. 2023; 2(1): 83-96.
 37. Gaspersz MM dan Fitrihidajati H. Pemanfaatan eko enzim berbahan limbah kulit jeruk dan kulit nanas sebagai agen remediasi las detergen. LenteraBio. 2022; 11(3): 503-513.
 38. Hasanah Y, Mawarni L, Hanum H. *Eco-enzyme* and its benefits for organic rice production and disinfectant. J. Saintech Transf. 2020; 3(2): 119-128.
 39. Islami S, Anggraini D, dan Deperiky D. Inovasi *eco enzyme* sebagai solusi ramah lingkungan di Nagari Lasi Kecamatan Canduang Kabupaten Agam. Jurnal Hilirisasi IPTEKS. 2023; 6(3) : 228-242.
 40. Wandira G A, Amelia K, Migusnawati, Ananto. Respon pertumbuhan vegetatif tanaman padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Lampai Sirandah terhadap pemberian *eco enzyme*. Jurnal Agroplasma. 2024; 11(1): 267-275.
 41. Hayati HF. *Eco-enzyme*. Cilacap: Dinas Pertanian Cilacap. BPP Dayeuhluhur.
 42. Islami S, Rafindo H, Wulanda F, Febrianto H, Nolasari M P, Yonaldi S, at al. Peningkatan kualitas lingkungan melalui aplikasi massal eco enzyme, sosialisasi, penguatan, dan penerapan di sektor pertanian. Jurnal Dewantara. 2024; 7(2): 1-10.
 43. Sugiyanto, Andika VK, Laurentza NRJ. *Eco Enzym* Jeruk Lemon dan Manfaatnya sebagai Sabun Cair Cuci Tangan. cetakan 1. Malang: PT Literasi Nusantara Abadi Grup; 2024.
 44. Fatimah E, Husna A U, Rafia, Santoso P. Khasiat antiinflamasi eko-enzim berbasis kulit buah jeruk (*Citrus* sp.) terhadap mencit yang diinduksi karagenan. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. 2022; 8(2): 119-126.
 45. Nasihin L, Nurdin, Kosasih D, Mulyanto A, Maryam S. Pelatihan peningkatan kapasitas pembuatan ecoenzym sebagai alternatif pemutus rantai sampah organik rumah tangga. 2022; 5(1): 1-4.
 46. Pakpahan H T, Panataria L R, Simatupang J T, Sianipar E M. Pemanfaatan sampah organik dan tanaman lokal menjadi *eco-enzyme* bagi masyarakat Desa Lumban Pea Timurbalige. Jurnal Methabdi. 2022; 2(1): 58-63.
 47. Jannah M, Firdha N, Aniswah H, Idrus, Farma S A. Organoleptic test of *eco-*

- enzyme* products from vegetable and fruit waste. Prosiding Semnas Bio 2021 Universitas Negeri Padang. 2021; 01: 198-205.
48. Widiani N, Novitasari A. Produksi dan karakterisasi eco-enzim dari limbah organik dapur. Jurnal Bioedukasi 2023; 14(1): 110-116.
 49. Naillah A, Budiarti L Y, Heriyani F. Literature Review: Analisis kualitas air sungai dengan tinjauan parameter pH, suhu, BOD, COD, DO terhadap Coliform. Jurnal Homeostasis 2021; 4(2): 487-494.
 50. Nururrahmani A, Hibatulloh M R, Nabila R A, Kusnadi, Djuarsa P. Ekoenzim dari berbagai jenis kulit jeruk. Jurnal HIGIENE. 2023; 9(1): 30-3.
 51. Jelita R. Produksi eco enzyme dengan pemanfaatan limbah rumah tangga untuk menjaga kesehatan masyarakat di era new normal. Jurnal Maitreyawira. 2022; 3(1): 28-35.
 52. Larasati D, Astuti A P, Maharani E T. Uji organoleptik produk eco-enzyme dari limbah kulit buah (studi kasus di Kota Semarang) Jurnal Seminar Nasional Edusainstek.2020; 278-283.
 53. Wulandari W S dan Winarsih. Pengaruh ekoenzim berbagai limbah kulit buah terhadap penurunan konsentrasi surfaktan pada air limbah laundry. LenteraBio. 2024; 13(1): 93-104.
 54. Patrisyawati W, Muniroh C, Fakhruddin F, Widiyanto A dan Trisnowati E. Efektivitas penambahan Em-4 pada proses fermentasi *eco-enzyme*: pengolahan sampah rumah tangga menjadi produk serba guna. EDUPROXIMA J. Ilm. Pendidik. IPA . 2024; 6(3): 1016-1023.
 55. Putra S F, Fitri R, Fadilah M. Pembuatan media tumbuh bakteri berbasis lokal material. Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang: 1043-1050.
 56. Rinihapsari E, Onesiforus B Y, Nugroho S M. Pengaruh pemanasan berulang media nutrient agar terhadap hasil uji sensitivitas. Antigen Jurnal Kesehatan Masyarakat dan Ilmu Gizi. 2023; 1(3) : 18-26.
 57. Heryana, A. Metodologi Penelitian pada Kesehatan Masyarakat. Edisi ke-2. Tangerang: Universitas Esa Unggul; 2020.
 58. Salsabila AZ, Agustrina R, Arifiyanto A dan Asih D. Uji efektivitas ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepok Manado (*Musa paradisiaca* var *formatypica*) muda sebagai antimikroba. Biosf. J.Bio. Pend.Bio. 2024; 9(1): 70-80.
 59. Gayanti ANS, Suartha IN dan Sudipa P H. Uji aktivitas antibakteri ekoenzim terhadap bakteri *Escherichia coli* yang diisolasi dari kulit anjing. Bul. Vet. Udayana. 2023; 15(4): 667-673.
 60. Ledo MES, Rupidara AD, Solle HR, Nitsae M dan Nomleni FT. Aktivitas antimikroba larutan antiseptik dari *garbage enzyme* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Sciscitatio.2024; 5(1): 40-46.
 61. Nurhaliza S, Tivani I. Pengaruh jenis bahan organik pada pembuatan *eco-enzyme* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. J. Ilm. Biol. Unsoed. 2024; 6(1): 37-43.
 62. Sinthalarosa MD, Suartha IN dan Sudipa PH. Uji daya hambat ekoenzim terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus* spp yang diisolasi dari jaringan ektodermal kulit anjing. Bul. Vet. Udayana. 2023; 15(2): 278-285.

63. Purba PY, Yoswaty D dan Nursyirwani N. Antibacterial activity of avicennia alba leaves and stem extracts against pathogenic bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas salmonicida*, *Staphylococcus aureus*). J. Coast. Ocean Sci. 2022; 3(2): 144-151.
64. Wijaya A F, Destiawan RA. Media Alternatif Tepung Terigu Tinggi Protein untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Kesehatan. 2020; 18 (2): 130-135.
65. Sakinah A A A, Mauboy RS, dan Refli . Penggunaan Media Tepung Limbah Ikan Cakalang Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Jurnal Biotropikal Sains. 2019; 16 (3): 36 – 46.
66. Hendri., Zakiah Z., dan Kurniatuhadi R. Antibacterial Activity of pineapple reel Ecoenzym (*Ananas comosus* L) on growth *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermis*. Jurnal biologi tropis. 2023; 23(3):464-4.
67. Pratama HPA, Syah PI, Royhan I, Maritsa HU, Yusuf AI. Aktivitas Ekoenzim Kulit Nanas (*Ananas Comosus* (L). Merr) Varietas Tangkit sebagai Antiseptik Alami terhadap *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus aureus*. BIOSPECIES. 2025; 18 (1) : 7 – 15.
68. Lestari, P. Ardiningsih., dan Nurфина. 2016. Aktivitas antibakteri gram positif dan negatif dari ekstrak dan fraksi daun nipah asal pesisir sungai kakap Kalimantan. 5(4):1-4.
69. Hamidah MN, Rianingsih L, dan Romadhon. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari peda dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap *E. coli* dan *S. Aureus*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan. 2019; 1 (2): 11-21.
70. Ningtyas, R. 2010. Uji antioksidan antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang sebagai pengawet alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah. Jakarta.

LAMPIRAN

29% Overall Similarity

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

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Exclusions

- 55 Excluded Matches

Top Sources

- 27%  Internet sources
- 14%  Publications
- 6%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.