

## Uji Efektivitas Ekoenzim Berbahan Dasar Limbah Kulit Pisang Kepok Manado (*Musa paradisiaca* var. *formatypica*) Muda Sebagai Antimikroba

Annisa Zahwa Salsabila<sup>1</sup>, Rochmah Agustina<sup>2</sup>, Achmad Arifiyanto<sup>3</sup>, Sumardi<sup>4</sup>, dan Dwijo Asih Saputri<sup>5</sup>

<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup> Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung

Jl. Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No.1, Kota Bandar Lampung, Lampung, Indonesiae-mail: [annisazahwas01@gmail.com](mailto:annisazahwas01@gmail.com)

### Abstrak

Ekoenzim merupakan larutan fermentasi yang diproduksi menggunakan limbah organik seperti limbah sayur dan kulit buah yang direndam dalam air bersama sama dengan kandungan gula. Salah satu limbah organik yang dapat dimanfaatkan untuk membuat ekoenzim yaitu limbah kulit pisang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas larutan ekoenzim berbahan organik kulit pisang kepok manado muda. Penelitian eksperimen dilakukan untuk menguji berupa karakter biologi yaitu aktivitas antimikroba yang dilakukan digunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) satu faktor. Faktor perlakuan adalah pertama konsentrasi ekoenzim yaitu 25%, 50% dan 75% yang diujikan pada *Xanthomonas campestris* dan *Bacillus* sp. Setiap unit perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Penelitian observasi dilakukan untuk mengetahui karakter kimia larutan ekoenzim antara lain pH, TS, TDS dan kandungan senyawa fitokimia. Hasil yang diperoleh adalah larutan ekoenzim berbahan organik kulit pisang kapok manado muda memiliki pH 4,0 - 5,5, nilai TS dan TDS masing masing 79% dan 3760 ppm, mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin. Uji antibakteri menunjukkan bahwa larutan ekoenzim dengan konsentrasi 50% dan 75% terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas campestris*.

kata kunci : Bioaktivitas, Ekoenzim, Karakter biokimia, Kulit pisang.

### Abstract

Ecoenzymes are fermented solutions are produced using organic wastes such as vegetable waste and fruit peels which are soaked in water together with a source of sugar. The organic wastes can be used to make ecoenzymes is banana peels. This study aims to determine efectivity of ecoenzyme solutions from organic materials derived young kapok Manado banana peels. Experimental research was carried out to test biological characters, namely antimicrobial activity which was carried out using a one-factor Randomized Block Design (RBD). The treatment factor was the ecoenzyme concentration of 25%, 50% and 75% which was tested on *Xanthomonas campestris* and *Bacillus* sp. Treatment unit was repeated 4 times. Observational studies were carried out to determine chemical characteristics ecoenzyme solutions, including pH, TS, TDS and the content of phytochemical compounds. The results obtained are ecoenzyme solutions from organic materials derived from young kapok Manado banana peels having pH of 4.0 - 5.5, TS and TDS values respectively 79% dan 3760 ppm containing compounds flavonoids, tanins and saponins. Antibacterial tests showed ecoenzyme solutions with concentrations of 50% and 75% proved effective in inhibiting the growth of *Bacillus* sp. and *Xanthomonas campestris*.

**keywords:** Banana peel, Bioactivity, Biochemical character, Ecoenzyme.

## I. PENDAHULUAN

Ekoenzim merupakan larutan yang berasal dari proses fermentasi. Ekoenzim memiliki banyak manfaat untuk berbagai bidang seperti pertanian, perkebunan serta

perbaikan kualitas lingkungan. Ekoenzim yang diperoleh dari pemanfaatan limbah organik seperti buah dan sayur selain dapat berfungsi sebagai antimikroba juga diketahui dapat meningkatkan kualitas pertumbuhan tanaman (Azhar *et al.*, 2021).

Salah satu sumber limbah organik yang tersedia melimpah dan dapat dimanfaatkan untuk bahan pembuatan ekoenzim adalah pisang. Pisang tumbuh dengan baik di Indonesia sehingga banyak dibudidayakan. Kulit pisang menyumbang sebanyak 47% - 50% dari total produksi buah pisang, dengan demikian limbah kulit pisang berpotensi menyebabkan dampak negatif terhadap kesehatan lingkungan bila tidak dikelola dengan baik (Gomes, Feerira, Pimentel, 2016).

Sementara diketahui bahwa kulit pisang masih mengandung bahan organik yang tinggi antara lain potassium sebesar 78.1%, kalsium 19.2% dan besi 24.3% (Rustianti *et al.*, 2018). Kulit pisang juga mengandung unsur kimia lain seperti magnesium, fosfor, sulfur dan sodium yang masih bisa dimanfaatkan diantaranya sebagai bahan untuk pembuatan kompos (Putri *et al.*, 2022). Serta juga dapat dijadikan sebagai sumber bahan larutan ekoenzim.

Larutan ekoenzim umumnya mengandung berbagai zat-zat aktif seperti asam organik, senyawa metabolit sekunder, fenol, serta beberapa senyawa aktif sebagai penghasil aktivitas mikroba berbahan dasar kulit buah atau limbah sayuran. Kandungan larutan ekoenzim dapat bermanfaat sebagai penunjang pertumbuhan dan antimikroba bagi tanaman, agen pembersih rumah tangga, penangkal serangga dan sebagai pembersih buah dan sayur (Yanti & Chandra, 2020). Hasil penelitian Galintin *et al.* (2021) membuktikan bahwa larutan ekoenzim mengandung enzim lipase, protease, lipase dan amilase. Manfaat ekoenzim sebagai disinfektan diduga karena adanya kandungan asam asetat dan alkohol yang terbentuk selama proses fermentasi. Asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) dapat membunuh bakteri, virus dan kuman (Muliarta & Darmawan, 2021).

Berbagai manfaat yang diperoleh dari ekoenzim menjadikannya banyak yang tertarik untuk mengkaji lebih dalam tentang potensi ekoenzim, terutama untuk mengkaji karakteristik dan manfaat ekoenzim sebagai antimikroba nabati baik pada jamur maupun bakteri dengan berbagai sumber bahan organik yang berbeda (Mahdia *et al.*, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekoenzim berbahan dasar limbah organik pisang kepok manado

muda dalam menghambat bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas campestris*.

*Xanthomonas campestris* mampu menyebabkan daun tanaman menguning dan layu lebih cepat serta menyebabkan pematangan buah menjadi tidak merata. Sementara itu bakteri *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang dapat menyebabkan kontaminasi di udara yang dapat mengakibatkan kerusakan pada makanan khususnya makanan kaleng, sehingga mengakibatkan munculnya gejala gastroenteritis pada manusia (Onibala, 2013).

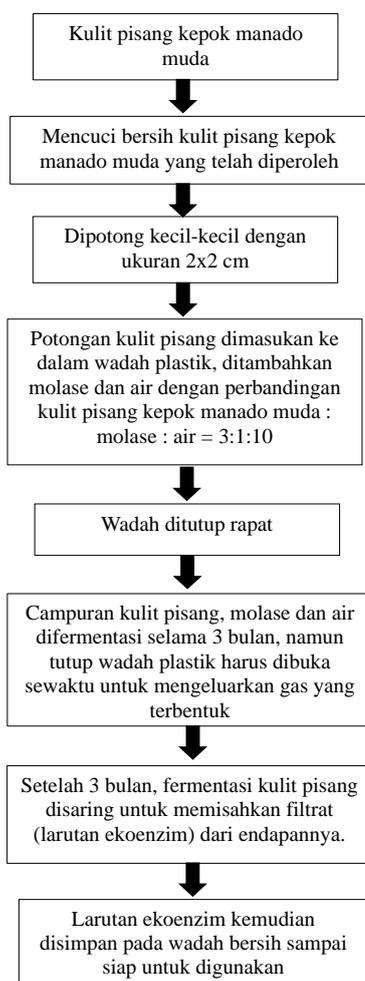
## II. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan September 2022 – Februari 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Penelitian ini terbagi menjadi dua bagian. Bagian 1 penelitian observasi ditujukan untuk mengetahui karakteristik kimia ekoenzim yaitu pH, *Total Solid* (TS), *Total Dissolved Solid* (TDS) dan kandungan fitokimianya. Bagian 2 merupakan penelitian eksperimen untuk menguji daya hambat ekoenzim terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas campestris*

Penelitian eksperimen dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktor. Faktor pertama berupa konsentrasi ekoenzim 25%, 50%, dan 75%, kontrol positif menggunakan kloramfenikol, dan kontrol negatif menggunakan aquadest. Faktor kedua berupa mikroba uji yaitu isolat bakteri *Bacillus* sp, dan *Xanthomonas campestris*. Setiap unit perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 26, 2022 melalui *One Way Anova* kemudian dilakukan uji lanjut Tukey dengan tujuan menentukan konsentrasi ekstrak yang paling efektif sebagai antibakteri dengan taraf  $\alpha$  5%.

### Pembuatan Ekoenzim



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan ekoenzim (Ramadani *et al.*, 2019).

### Pengukuran Karakter Kimia Larutan Ekoenzim

Karakter kimia yang diukur adalah pH, *total solid* (TS), *Total dissolved solid* (TDS), dan kandungan fitokimia ekoenzim.

### Pengukuran pH Larutan Ekoenzim

Pengukuran pH larutan dilakukan menggunakan pH meter digital Meditech. Sebelum digunakan, elektroda pH meter dikalibrasi menggunakan larutan pH buffer 4, 7, dan 10. Setelah dikalibrasi, elektroda pH meter dibilas dengan akuades, kemudian dikeringkan dengan tisu, baru dapat digunakan untuk mengukur pH Larutan ekoenzim.

### Penentuan Kadar Total Solid (TS)

Total Solid (TS) adalah seluruh bahan padatan dalam larutan ekoenzim. Setelah larutan ekoenzim dipanaskan dalam oven pada suhu 103 – 105 °C selama 1 jam, maka semua residu yang tertinggal merupakan TS.

TS ekoenzim diukur dengan memasukan 10 mL larutan ekoenzim ke dalam cawan *porcelain* yang telah diketahui beratnya. Cawan yang telah diisi ekoenzim ditimbang kembali beratnya. Ekoenzim dalam cawan kemudian diuapkan dengan menempatkan cawan berisi ekoenzim di atas *waterbath* hingga kering. Setelah kering, cawan petri yang berisi TS ekoenzim dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam. Setelah cawan petri didiamkan selama 30 menit kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik sampai beratnya konstan.

Menurut metode standar APHA, rumus kandungan *total solid* dapat dilihat pada persamaan di bawah ini (Darwin *et al.*, 2018).

$$TS = \frac{(W3 - W1)}{(W2 - W1)} \times 100\%$$

Keterangan :

TS : *Total Solid*

W1 : Berat cawan

W2 : Berat cawan dan berat sampel

W3 : Berat cawan dan berat sampel setelah dioven

### Penentuan Kadar Total Dissolved Solid (TDS)

Penentuan kadar *Total Dissolved Solid* (TDS) larutan ekoenzim dilakukan menggunakan TDS meter. Elektroda TDS meter sebelum digunakan dicelupkan dalam aquades kemudian dikeringkan dengan tisu. Pengukuran TDS dilakukan dengan mencelupkan TDS meter ke dalam 150 mL larutan ekoenzim sedalam kurang lebih 5 cm dari permukaan ekoenzim sampai nilai TDS larutan ekoenzim terlihat dalam layer monitor.

### Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk menguji keberadaan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid di dalam larutan ekoenzim.

Identifikasi Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan memasukan sebanyak 1 mL ekoenzim kemudian ditambahkan 2 mg serbuk magnesium (Mg) dan 3 tetes HCl 37%. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning, jingga, atau merah akibat reduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid oleh asam klorida dan magnesium sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna kuning, jingga hingga merah (Iskandar *et al.*, 2020).

#### Identifikasi Alkaloid

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan memasukan sebanyak 1 mL larutan ekoenzim ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff yang tersusun atas kalium iodida, bismut sub-nitrat, dan asam asetat glasial. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya warna *orange* pada sampel (Kartika *et al.*, 2022). Menurut (Fajrin dan Susila, 2019), perubahan warna tersebut karena terjadinya reaksi antara alkaloid dan kalium *tetraiodobismutat* (III).

#### Identifikasi Tanin

Identifikasi senyawa tanin dilakukan dengan memasukan sebanyak 1 mL ekoenzim ke dalam tabung reaksi kemudian direaksikan dengan 5 tetes reagen FeCl<sub>3</sub> 1%. Adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru-hitam atau hijau-hitam yang diakibatkan terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin (Halimu *et al.*, 2017).

#### Identifikasi Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan meneteskan sebanyak 10 tetes aquades panas yang sudah berisi 1 mL ekoenzim ke dalam tabung reaksi. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N (Susanti *et al.*, 2021). Buih yang terbentuk diakibatkan saponin memiliki gugus hidrofob dan hidrofil yang dapat bertindak sebagai permukaan aktif dalam pembentukan busa (Putrinesia *et al.*, 2018).

#### Identifikasi Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan meneteskan sebanyak 2 mL larutan ekoenzim kemudian tambah dengan pereaksi Liebermann-Burchard.

Pereaksi Liebermann-Burchard dibuat dengan mendinginkan asam asetat anhidrat selama 30 menit kemudian ditambah dengan asam sulfat pekat perbandingan 10:1. Adanya perubahan warna yang membentuk cincin coklat atau violet terbentuk akibat reaksi antara senyawa terpenoid dan Pereaksi Liebermann-Burchard yang menunjukkan adanya kandungan terpenoid (Aulyawati & Suryani, 2021).

#### Peremajaan Bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas campestris*

Bakteri *Xanthomonas campestris* diremajakan pada media *nutrient agar* (NA). Media NA dibuat dengan melarutkan 20 gram NA dalam 1 liter *aquadest di dalam beaker glass*, kemudian dipanaskan di atas *stirrerred hot plate* hingga homogen. Media NA yang telah homogen disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm. Media NA yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 10 mL dan dibiarkan hingga memadat (Agil *et al.*, 2015).

Peremajaan dan perbanyakan stok bakteri dilakukan dengan cara menginokulasikan masing-masing 1 ose biakan pada media NA dalam cawan petri secara steril dalam *laminar air flow*. Perbanyakan stok bakteri pada media NA dilakukan dengan teknik cawan gores, kemudian diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator. Setelah 24 jam bakteri dimasukkan ke dalam kulkas untuk menghambat pertumbuhan bakteri sementara sampai bakteri digunakan untuk pengujian.

#### Suspensi bakteri *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas campestris*

Isolat *Bacillus* sp. dan *Xanthomonas campestris* masing-masing yang diperoleh dari peremajaan bakteri diremajakan kembali pada media NA kemudian diinkubasi selama 24 jam. sebanyak 1 ose bakteri yang telah diremajakan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 mL NaCl fisiologis menggunakan ose bulat. Isolat bakteri dalam tabung reaksi kemudian di *vortex* hingga homogen. Kekeruhan bakteri dalam tabung reaksi kemudian dibandingkan dengan standar *McFarland* 0.5 yang setara dengan  $1.5 \times 10^8$  CFU (Nurhayati *et al.*, 2020). Standar kekeruhan *McFarland* dijadikan sebagai pengganti perhitungan koloni mikroba secara

manual yang dapat menggunakan beberapa metode (Dewi *et al.*, 2015).

### Uji Antibakteri Ekoenzim

Uji antibakteri ekoenzim dilakukan pada tiga konsentrasi ekoenzim berbeda seperti tertera pada (Tabel 1).

**Tabel 1.** Penentuan konsentrasi larutan ekoenzim dibuat dengan campuran larutan ekoenzim (X) di dalam pelarut *aquadest* (Y).

Konsentrasi	Ekoenzim (X)	<i>Aquadest</i> (Y)
25%	2,5 mL	7,5 mL
50%	5 mL	5 mL
75%	7,5 mL	2,5 mL
100%	10 mL	0 mL

Konsentrasi ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepok manado muda dibuat dengan mengencerkan ekoenzim dan aquades seperti tertera pada Tabel 1.

Bakteri yang diinokulasi pada cawan petri yang telah diinkubasi selama 24 jam diambil sebanyak beberapa ose untuk dijadikan suspensi bakteri, kemudian dibandingkan kekeruhannya dengan standar *Mcfarland* 0.5 yang setara dengan kepadatan bakteri  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL. Kemudian dari suspensi yang telah diperoleh diambil sebanyak 100  $\mu$ l menggunakan mikropipet dan diteteskan di atas permukaan media NA yang sudah memadat, suspensi bakteri yang telah diinokulasikan pada permukaan media NA diratakan menggunakan *cotton swab steril* dan ditunggu selama beberapa menit hingga suspensi mengering.

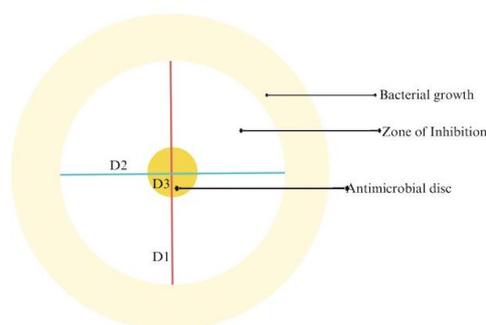
Kertas cakram steril yang sudah ditetesi larutan ekoenzim dengan konsentrasi sesuai perlakuan (Tabel 1) diletakkan pada permukaan inokulum bakteri pada media NA menggunakan pinset. Setiap cawan berisi 3 buah kertas cakram dengan masing-masing konsentrasi berbeda (25%, 50% dan 75%) diletakkan dengan jarak antar cakram 3 cm dan jarak cakram dari tepi cawan sebesar 2 cm. Satu cawan dipisahkan dengan berisi cakram yang telah direndam kloramfenikol sebagai kontrol positif dan cakram *aquadest* sebagai kontrol negatif.

Cawan petri yang telah diberi inokulasi bakteri dan berisi kertas cakram yang mengandung larutan ekoenzim 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).

### Perhitungan Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri diukur dengan mengambil dua garis yang saling tegak lurus melalui titik pusat cakram.



**Gambar 2.** Ilustrasi perhitungan diameter zona hambat bakteri (Andries *et al.*, 2014)

Perhitungan diameter zona hambat yang terbentuk mengikuti perhitungan (Andries *et al.*, 2014) yang dimodifikasi. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri seperti tertera pada (Gambar 1) diameter zona hambat 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 berikut :

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

Keterangan :

- D = Diameter zona hambat
- D1 = Diameter zona hambat horizontal
- D2 = Diameter zona hambat vertikal
- D3 = Diameter kertas cakram

Diameter zona hambat dapat dikategorikan kekuatannya berdasarkan Greenwood (2000) : kuat (zona hambat >20mm), sedang (zona hambat 10 – 15 mm) dan tidak ada (zona hambat <10 mm) (Alfath *et al.*, 2013).

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter kimia larutan ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepok manado (*Musa*

*paradisiaca var. formatypica*) muda, dilihat berdasarkan pH, *total solid* (TS) dan *total dissolved solid* (TDS) seperti tertera pada (Tabel 2).

**Tabel 2.** Hasil pengukuran parameter kimia kimia meliputi pH, TS dan TDS Ekoenzim

Paramet er	Keterangan Ekoenzim			
	25%	50%	75%	100%
pH	5,50	4,30	4.20	4.00
TS	55,10%	63,07%	70,29%	79,00%
TDS	1650 ppm	2770 ppm	3170 ppm	3760 ppm

### pH

Hasil pengukuran pH ekoenzim diperoleh bahwa ekoenzim memiliki pH asam (Tabel 2). Rendahnya pH ekoenzim disebabkan tingginya konsentrasi asam organik dari hasil proses metabolisme mikroorganisme yang secara alami terdapat pada limbah buah dan sayuran (Larasati *et al.*, 2020). Nilai pH terendah ekoenzim diperoleh pada konsentrasi 100% dan nilai pH tertinggi diperoleh pada konsentrasi 25%. Nilai pH yang rendah pada konsentrasi 100% diduga karena tingginya kandungan asam dimana semakin tinggi konsentrasi larutan ekoenzim maka kandungan asamnya juga akan semakin tinggi yang berakibat pada tingginya kandungan proton H<sup>+</sup>. Dugaan ini sesuai dengan hasil penelitian Gaspersz *et al.* (2022) yang menunjukkan bahwa ekoenzim memiliki pH asam antara 4-5, sementara menurut Rochyani *et al.* (2020) ekoenzim memiliki pH 3-4.

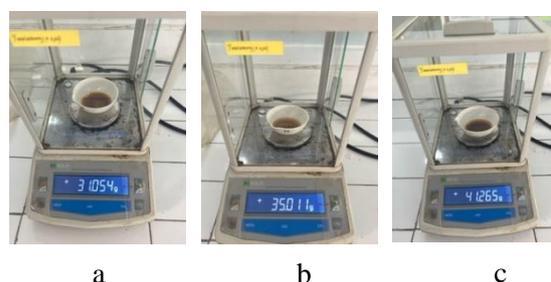
Kandungan asam yang terbentuk selama proses fermentasi dihasilkan dari penguraian karbohidrat oleh mikroba yang berasal dari bahan organik yang dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepek manado muda. Gaspersz *et al.* (2022) berpendapat bahwa ekoenzim mengandung berbagai enzim yang berasal dari aktivitas fermentasi mikroorganisme dan yang secara alami terdapat pada kulit buah yang digunakan dalam pembuatan ekoenzim.

### Total Solid (TS) dan Total Dissolved Solid (TDS)

*Total solid* (TS) yang terdapat dalam larutan ekoenzim dikelompokkan menjadi zat padat yang bersifat organik maupun anorganik. Zat padat

dalam ekoenzim dapat berupa padatan yang mengendap, terlarut maupun tidak terlarut. Adanya zat yang *solid* dalam larutan ekoenzim mengakibatkan kekeruhan (Darwin *et al.*, 2018).

Nilai TS larutan ekoenzim dari kulit pisang kepek manado muda berbeda tergantung pada konsentrasinya. Semakin tinggi konsentrasi ekoenzim maka nilai TS semakin tinggi. Nilai TS larutan ekoenzim tertinggi adalah 100% tingginya nilai TS larutan ekoenzim juga dapat dilihat dari tingkat kekeruhannya, dimana semakin tinggi konsentrasi larutan ekoenzim akan semakin keruh.



**Gambar 3.** Berat cawan dan berat sampel ekoenzim setelah dioven dalam satuan (gram). Semakin tinggi konsentrasi ekoenzim, nilai TS semakin tinggi dan larutan semakin keruh (a) ekoenzim 25%, (b) ekoenzim 50%, dan (c) ekoenzim 75%.

Nilai *Total dissolved solid* (TDS) larutan ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepek manado muda yang diukur menggunakan TDS meter tertera pada Tabel 2.

Seperti halnya pada nilai TS, nilai TDS ekoenzim meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekoenzim. Nilai TDS larutan ekoenzim adalah 3760 ppm. Suhu ekoenzim saat TDS diukur adalah antara 26-28°C. Data ini sesuai dengan hasil penelitian Gaspersz *et al.* (2022) yang menunjukkan bahwa setelah 3 bulan fermentasi, larutan ekoenzim akan memiliki kisaran suhu 26-29°C. Tingginya nilai TDS dari hasil penelitian ini (Tabel 2) juga sesuai dengan hasil penelitian Rochyani *et al.* (2020) yang membuktikan nilai TDS ekoenzim 1000 ppm.

Dari data pH, TS dan TDS diduga terdapat keterkaitan antara nilai pH, TS dan nilai TDS. Sebagian senyawa organik dalam larutan ekoenzim adalah senyawa asam organik, dengan demikian terdapat hubungan antara rendahnya pH larutan ekoenzim dengan

tingginya TS dan TDS ekoenzim pada konsentrasi yang tinggi. Oktalina (2014) semakin tinggi konsentrasi puree jambu maka semakin tinggi kadar TS pada puree jambu, dan semakin pekat konsentrasi pH maka tingkat keasamannya semakin kecil atau semakin asam.

**Fitokimia**

Sifat kimia ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepek manado (*Musa paradisiaca var. formatypica*) muda juga dilihat berdasarkan hasil uji fitokimia seperti dapat dilihat pada (Tabel 3).

**Tabel 3.** Hasil uji fitokimia ekoenzim berbahan dasar kulit pisang kepek manado muda

Senyawa	Ekoenzim berbahan dasar kulit pisang kepek manado muda
Flavonoid	+
Alkaloid	-
Tanin	+
Saponin	+
Terpenoid	-

Analisis kualitatif senyawa fitokimia menunjukkan adanya hasil positif pada beberapa senyawa fitokimia. (Tabel 3). Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan serbuk magnesium (Mg) pada larutan ekoenzim dan menghasilkan perubahan warna yang semula berwarna coklat bereaksi dan berubah menjadi kuning. Menurut Hanani (2015) perubahan warna yang terjadi disebabkan oleh adanya reduksi asam klorida dan magnesium.

Hasil uji tanin pada larutan ekoenzim menghasilkan warna hitam setelah dilakukan penambahan pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian (Fajriaty & Setyaningrum, 2018) yang menunjukkan adanya perubahan warna larutan ekstrak menjadi hijau kehitaman atau biru tua setelah dideteksi pereaksi FeCl<sub>3</sub> yang menunjukkan positif adanya senyawa tanin. Tanin merupakan senyawa fenolik yang dapat larut dalam air. Umumnya senyawa ini berasa sepat.

Uji saponin pada larutan ekoenzim dilakukan dengan mengocok kuat sampel yang telah ditambah HCl 2N dan aquades selama 30 menit. Menurut Hanani (2015) saponin pada umumnya berada dalam bentuk glikosakarida, sehingga mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air. Menurut Putrinesia *et al.* (2018)

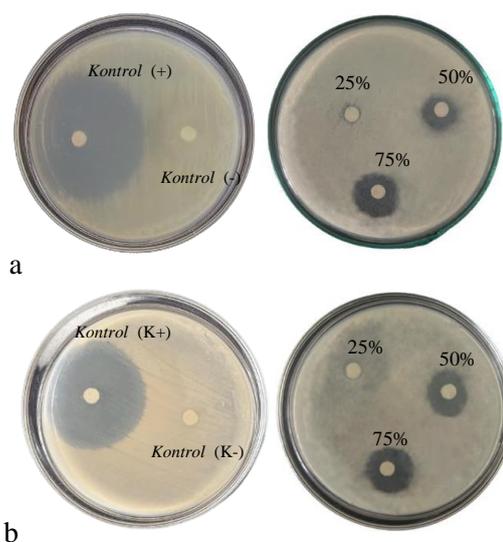
terbentuknya busa disebabkan karena saponin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidrofob dan hidrofil yang berfungsi sebagai permukaan aktif dalam pembentukan busa.

Dari Tabel 3 diketahui bahwa ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepek manado muda mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, tanin dan saponin. Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa yang bersifat fenol (OH). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Ulfa (2020) yang menunjukkan bahwa ekoenzim mengandung komponen kimia metabolit sekunder berupa saponin, flavonoid dan tanin.

**Uji antibakteri larutan ekoenzim terhadap pertumbuhan bakteri *Xanthomonas campestris* dan *Bacillus sp***

Hasil uji antibakteri larutan ekoenzim hambat terhadap pertumbuhan bakteri pathogen *Xanthomonas campestris* dan *Bacillus sp.* secara *in vitro* dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram seperti pada Gambar 1 a dan b.

Zona hambat ditunjukkan dengan daerah yang bening pada Gambar 2a dan 2b menunjukkan adanya aktivitas penghambatan larutan ekoenzim terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif (Gambar 2a) maupun Gram negatif (Gambar 2b).



**Gambar 4.** Zona hambat ekoenzim terhadap pertumbuhan (a) bakteri Gram negatif (*Xanthomonas campestris*) dan; (b) Gram positif (*Bacillus sp.*) pada konsentrasi yang berbeda.



transmembran dan transport substrat melalui membran. Selain itu asam organik bersifat amfifilik karena mengandung rantai hidrokarbon dan karboksil, sehingga mampu menembus membran sel dan mengganggu keseimbangan konsentrasi anion dan proton dalam sitoplasma (Kamila *et al.*, 2022).

Ekoenzim mengandung asam organik berupa asam asetat dan asam laktat, kedua asam tersebut memiliki pH rendah yang mengakibatkan bakteri tidak mampu bertahan. Pada umumnya bakteri dapat tumbuh pada pH kisaran 6-8. Dengan terbentuknya zat antibakteri dan asam maka pertumbuhan bakteri akan terhambat (Astrini *et al.*, 2014). Kandungan senyawa fitokimia larutan ekoenzim memiliki peranan penting pada aktivitasnya antibakteri. Berdasarkan (Tabel 3) diketahui bahwa ekoenzim berbahan dasar limbah kulit pisang kepok manado muda mengandung senyawa fitokimia flavonoid, tanin dan saponin. Ketiga senyawa tersebut merupakan senyawa yang bersifat fenol (OH). Senyawa fenolik dalam ekoenzim dapat merusak membran bakteri, menghambat toksin pada bakteri, serta menghambat pertumbuhan biofilm bakteri (Majdanik *et al.*, 2018). Muzahfri (2019) menjelaskan bahwa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mendenaturasi protein dinding sel yang menyebabkan kerusakan pada struktur dinding sel. Senyawa saponin mampu menghambat pertumbuhan mikroba karena saponin dapat menyebabkan denaturasi protein sehingga tegangan permukaan dinding sel bakteri menurun dan permeabilitas dinding sel rusak. Kondisi ini mempengaruhi struktur membran sel bakteri dan mengganggu kelangsungan hidupnya (Sani *et al.*, 2014).

Sementara menurut (Nor *et al.*, 2018), tanin mempunyai aktivitas biologis sebagai antioksidan dan antibakteri. Senyawa tanin sebagai antibakteri bekerja dengan mengganggu sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan dinding sel bakteri lisis sebagai akibat tekanan osmotik maupun tekanan fisik maupun lingkungan yang kemudian mengakibatkan sel bakteri akan mati.

Dari hasil uji di atas dapat diketahui bahwa larutan ekoenzim berbahan limbah organik kulit pisang kapok manado muda pada konsentrasi 50 dan 75% lebih efektif menghambat pertumbuhan *Xantomonas campretis* dari pada pada pertumbuhan *Bacillus* sp. (Gram positif). Perbedaan efektifitas larutan ekoenzim dalam

menghambat pertumbuhan *Bacillus* sp dan *Xantomonas campretis* diduga karena kedua jenis bakteri uji memiliki daya resistensi dan tingkat sensitivitas yang tidak sama terhadap larutan ekoenzim yang diujikan.

Dugaan tersebut sesuai dengan pendapat Dewi *et al.* (2015) yang menjelaskan bahwa setiap bakteri memiliki kemampuan sensitivitas dan respon sel yang berbeda. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri dari dua lapisan yaitu peptidoglikan yang tebal dan membran dalam, sementara bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida dan lapisan peptidoglikan yang relative tipis (Hamidah *et al.*, 2019), perbedaan tersebut diduga menjadi penyebab tidak samanya diameter zona hambat yang terbentuk.

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa ekoenzim berbahan dasar kulit pisang kepok manado (*Musa paradisiaca* var. *formatypica*) muda memiliki karakteri kimia dengan pH asam antara 4.00 - 5.50, nilai TS dan TDS tertinggi masing-masing 79% dan 3760 ppm, dan mengandung senyawa fitokimia flavonoid, tanin, dan saponin. Uji antibakteri menunjukkan bahwa larutan ekoenzim dari limbah kulit pisang kepok yang paling baik untuk menghambat pertumbuhan bakteri adalah pada konsentrasi 75% dan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan terhadap bakteri Gram negatif *Xanthomonas campestris* dibandingkan terhadap bakteri Gram positif (*Bacillus* sp.).

Adapun saran yang diajukan berdasarkan penelitian ini yaitu, untuk penelitian selanjutnya diharapkan dilakukan pengujian ekoenzim sebagai antibakteri pada tanaman secara *in vivo* untuk mengetahui tingkat efektifitasnya ketika diaplikasikan langsung pada tanaman.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Agil, L., & Pratiwi, D. (2015). Pengembangan Bahan Berbasis Kontekstual Pada Mata Kuliah Biologi Umum. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 6 (1) : 23-25.

- Alfath CR, Yulina V, & Sunnati. (2013). Antibacterial Effect Of Graniti Fructus Cortex Extract on Streptococcus mutans In Vitro. *Journal Of Dentistry Indonesia*, 1 (20): 5-8.
- Andries, J. R., Gunawan, P. N., & Supit, A. (2014). Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri Streptococcus mutans secara In Vitro. *Jurnal E-Gigi Volume 2 Nomor 2. Manado : Universitas Sam Ratulangi*.
- Astrini, D., Wibowo, M. S., & Nugrahani, I. (2014). Aktivitas Antibakteri Madu Pahit Terhadap Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif Serta Potensinya Dibandingkan Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Oksitetrasiklin dan Gentamisin. In *Acta Pharmaceutica Indonesia: Vol. XXXIX* (Issue 4).
- Aulyawati, N., & Suryani, N. (2021). Skrining Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Rambut Jagung Manis (*Zea mays saccharata Strurf*) Menggunakan Metode DPPH. *SPIN*, 3(2), 132–142. <https://doi.org/10.20414/spin.v3i2.4101>
- Azhar., A. S., & Siti muslikah. (2021). Aplikasi Eco Enzyme Limbah Kulit Pisang Dan Model Budidaya Pada Pertumbuhan Dan Hasil Tanaman Jagung Ketan (*Zea mays Cerantina*) Lokal Dompu. In *Asmaniyah dan Muslikah* (Vol. 9, Issue 2).
- Darwin, D., Sarbaini, S., Purwanto, S., Dhiauddin, F., Ilham, M., & Fazil, A. (2018). Wastewater Treatment for African Catfish (*Clarias gariepinus*) Culture by Using Anaerobic Process. *Agritech*, 37(4), 462. <https://doi.org/10.22146/agritech.13058>
- Dewi, M. A., Anugrah, R., & Nurfitri, A. Y. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekoenzim Terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*. *Seminar Nasional Farmasi (SNIFA)*.
- Fajriaty, I., & Setyaningrum, R. (2018). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Daun Bintangur (*Calophyllum soulattri Burm. F.*). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 7(1).
- Fajrin, F.I dan Susila, I. 2019. Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Petai Menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi dan Sains (SNasTekS)* 18 September 2019.
- Galintin, O., Rasit, N., & Hamzah, S. (2021). Production and characterization of eco enzyme produced from fruit and vegetable wastes and its influence on the aquaculture sludge. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(3), 10205–10214. <https://doi.org/10.33263/BRIAC113.1020510214>
- Gaspersz, M. M., Fitrihidajati, H. (2022). Pemanfaatan Ekoenzim Berbahan Limbah Kulit Jeruk dan Kulit Nanas sebagai Agen Remediasi LAS Detergen. 11, 503–513. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/len-terabio/index503>
- Gomes, A. A. B., Ferreira, M. E., & Pimentel, T. C. (2016). Bread with flour obtained from green banana with its peel as partial substitute for wheat flour: Physical, chemical and microbiological characteristics and acceptance. *International Food Research Journal*, 23(5), 2214–2222.
- Halimu, B. R., Sulistijowati, S. R., & Mile, L. (2017). Identifikasi Kandungan Tanin pada Sonneratia Alba. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 5(4).
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda Terhadap E.coli dan S.aureus. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2).
- Hanani E. (2015). *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kartika, W., Yety Lindawati, N., Prian Nirwana. (2022). Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Terhadap Mortalitas Larva Aedes aegypti L. *Jurnal Farmasetis*, 11(3).
- Larasati D, Astuti AP, & Maharani ET. (2020). Uji Organoleptik Produk Eco-Enzyme dari Limbah Kulit Buah (Studi Kasus di Kota Semarang). *Seminar Nasional Edusainstek*, 278–283.
- Mahdia, A., Saafitri, P. A., Setiarini, R. F., Maherani, V. F., Ahsani, M. N., and

- Soenarno, M. S., (2022). Analisis Keefektifan Ekoenzim sebagai Pembersih Kandang Ayam dari Limbah Buah Jeruk (*Citrus* sp.). *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Pertanian*, 10(1), pp. 42-46.
- Mastuti, S. (2022). Potensi Bakteriosin pada Bakteri Asam Laktat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 11(1), 25–30. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v11i1.650>
- Miklasińska-Majdanik, M., Kępa, M., Wojtyczka, R. D., Idzik, D., & Wąsik, T. J. (2018). Phenolic compounds diminish antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* clinical strains. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 15, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijerph15102321>
- Nasrul Sani, R., Choirun Nisa, F., Dewi Andriani, R., & Mahar Maligan, J. (2014). Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Mikroalga-Sani, dkk. In *Jurnal Pangan dan Agroindustri* (Vol. 2, Issue 2).
- Nengah Muliarta, I., & Darmawan, K. (2021). Processing Household Organic Waste into Eco-Enzyme as an Effort to Realize Zero Waste. *Agriwar Journal*, 1(1), 6–11. <https://doi.org/10.22225/aj.1.1.3658.6-11>
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurul Yanti, S., & Evelyn Chandra, V. (2020). Study of Secondary Metabolites in Jeruk Sambal Juice (*Citrus microcarpa* Bunge) From Desa Kalimas, Kalimantan Barat. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. <https://www.journal-jps.com>
- Onibala, H. (2013). Identifikasi *Bacillus* sp. Pada Beberapa Tahapan Pengolahan Frozen Tasteless Smoked Tuna. In *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis* (Vol. 2).
- Putrinesia, I., Pratama, Y., Asyikin, N., & Rahmalia, W. (2018). Formulasi dan Uji Aktivitas Krim Pengkelat Merkuri Berbahan Dasar Ekstrak Etanol Alga Coklat (*Sargassum* sp.). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(1), 152. <https://doi.org/10.20961/alchemy.14.1.12242.152-163>
- Ramadani, A. H., Rosalina, R., & Ningrum, R. S. (2019). Pemberdayaan Kelompok Tani Dusun Puhrejo dalam Pengolahan Limbah Organik Kulit Nanas Sebagai Pupuk Cair Eko-enzim. *Prosiding Seminar Nasional Hayati VII*, 225–226.
- Rindi Oktalina. (2014). *Reologi Puree Buah Jambu Biji Merah (Psidium guajava L.) Pada Berbagai Konsentrasi*. [Skripsi]. Universitas Jember.
- Rochyani, N., Utpalasari, R. L., & Dahliana, I. (2020). Analisis Hasil Konversi Eco-Enzyme Menggunakan Nanas (*Ananas comosus*) dan Pepaya (*Carica papaya L.*) (Vol. 5, Issue 2).
- Savira, D., & Iskandar D. (2020). Pemanfaatan Ekstrak Daun Kitolod (*Hippobroma longiflora* (L) G.Don) Sebagai Bahan Aktif Sediaan Tabir Surya. *Jurnal Kimia Riset*, 5(1): 44-48.
- Susanti Vh, E., Mulyani, S., Retno, S., Ariani, D., Budi Utomo, S., & Antrakusuma, B. (2021). *Phytochemical Screening Of Honey Pineapple Peel Extract And Its Application As An Antibacterial Additive In Dish Soap Formulation*. 6(1), 2021. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v6i1.4544>
- Theresia Avilla Nor., Desi Indriarini., Sangguana Marten Jacobus Koamesah. (2018). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. *Cendana Medical Journal*, (Vol 15, Issue 3: 328).
- Zahrina Aufiya Kamila, O., Mulyadi, H., & Yoshi Haryono, N. (2022). Optimasi Pembuatan Ekoenzim dari Limbah Kulit Kopi dan Pepaya. In *Live and Applied Science* (Vol. 1)